



ES

# EIA CanAg CA242

REF

101-10

IVD

CE

Instrucciones de uso. 2009-06

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	OBJAŠNENJE 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	OBJAŠNENJE 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/Izletot 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/Üretim tarihi



Temperature limitation/  
Температурни граници/  
Терлотни омеzeи/  
Temperaturbegrænsning/  
Temperaturbegrenzung/  
Περιορισμοί θερμοκρασίας/  
Limites de temperatura/  
Temperatuuri piirang/  
Limite de température/  
Temperaturno ograničenje/  
Hőmérsékletre vonatkozó korlátozás/  
Limiti di temperatura/  
Temperatūriniai apribojimai/  
Temperatūras ierobežojums/  
Temperaturbepæring/  
Temperaturbegrensninger/  
Temperaturey granicne/  
Limite de temperatura/  
Limite de temperatură/  
Температурный режим/  
Temperaturbegrænsning/  
Teplotné obmedzenie  
Omejitve temperature/  
Temperaturno ograničenje/  
Sıcaklık sınırlaması/

## 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 meditsiineseade/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/  
Zdravotnička 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/Πεξεχόμενο 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/Turiny's skirtas atlikti <96> tyrimus/ Saturs 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/Kataloški broj/  
Katalógusszám/Numero di catalogo/  
Katalogo numeris/Numurs katalogā/  
Catalogusnummer/Katalognummer/  
Numer katalogowy/Número do catálogo/  
Număr de catalog/Номер по каталогу/  
Produktnummer/Katalógové číslo/  
Kataloška številka/Kataloški broj/  
Katalog numarası



Consult Instructions for Use/  
Прочетете инструкцията за  
употреба/Konzultujte s návodem  
k použití/Se brugsanvisning/Siehe  
Gebrauchsanweisung/Συμβουλευτείτε  
της Οδηγίες σχετικά με τη χρήση/  
Consulte las instrucciones de uso/  
Vt kasutusjuhendit/Consulter 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  
for bruk/Sprawdzić 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



Contents of kit/Съдържание на набора/  
Obsah sady/Kittets inhold/Inhalt des  
Kits/Περιεχόμενα του κιτ/Contenido  
del kit/Komplekt sisaldab/Contenu du  
kit/Sadržaj opreme/A készlet tartalma/  
Contenuto 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/Biológická rizika/Biologisk  
fare/Biologische Gefahren/Βιολογικοί  
κίνδυνοι/Riesgos biológicos/  
Bioloogilised ohud/Risques biologiques/  
Biolóskli rizici/Biológiai kockázatok/Rischi  
biologici/Biologinis pavojus/Biológiskais  
risks/Biologische risico's/Biologische  
risikoer/Zagroženie biologiczne/Riscos  
biológicos/ Biologisk risk/Pericole  
biologice/Биологическая опасность/  
Biologicky rizikové/Biologické riziká/  
Biolóskli rizici/Biyolojik riskler



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



From mouse/C миши производ/Myši/  
Fra mus/der Maus/από ποντίκι/de ratón/  
Hiirtelt/De souris/Mišijeg porjekla/  
Egérböli/Murino/Pelės kilmės/No peles/  
Van muizen/Fra mus/Mysia/Do rato/De  
la șoareci/Мышиного происхождения/  
Från mus/Myšije/Mišijega izvora/Mišijeg  
porekla/Fareden



Bovine/C говежди производ/  
Hovēži/Bovin/Rind/από βοοειδή/  
Bovino/Veistelt/Bovine/Rogate stoke/  
Szarvasmarha/Bovino/Jaučio/No  
liellopa/Bovien/Bovini/Wolowy/Bovino/  
Origine bovină/крупного рогатого  
скота/Från ko/Hovädzie/Rogaveja  
izvora/Rogate krupne stoke/Bovin



Reconstitute with/Разтворение с/  
Rozfeďte pomocí/Rekonstitueres med/  
Rekonstituieren mit/Ανασύσταση με/  
Reconstituir con/Lahjendamine/  
Rekonstituer avec/Rekonstituiraite s/  
Feloldáshoz/Ricostituire con/Atkurti,  
ištirpdant su/Atšķaidīt ar/Rekonstituie  
met/Rekonstitueres med/Odtworzyć  
za pomocą/Reconstituir com/A  
se reconstitui cu/Разтворить в/  
Rekonstituera med/Rozriedte pomocou/  
Rekonstituiraite z/s/Ponovno formiranje  
sa/Yeniden oluşturulur



Manufacturer/Производитель/Výrobce/  
Producent/Hersteller/Κασκευαστής/  
Fabricante/Tootja/Fabricant/Proizvođač/  
Gyártó/Fabbricante/Gamintojas/  
Ražotājs/Fabrikant/Producent/  
Producent/Fabricante/Producător/  
Производитель/Тilverkare/ Výrobca/  
Izdelovalec/Proizvođač/Üretici

# EIA CanAg CA242

Instrucciones de uso

Kit de ensayo inmunométrico enzimático  
Para 96 determinaciones

## USO PREVISTO

El kit de EIA CanAg CA242 está destinado a la determinación cuantitativa del antígeno CA242 del cáncer en el suero.

## RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL ENSAYO

El marcador tumoral CA242 está definido por el anticuerpo monoclonal C242. La estructura química del determinante antigénico no se conoce con exactitud, pero se ha demostrado que el determinante es una estructura de carbohidrato sialilado. En el suero, se encuentra el CA242 en el mismo complejo de mucina que el CA50 y el Lewis<sup>a</sup> sialilado (CA19-9). Por tanto, el CA242 está relacionado, pero no es idéntico, al epítipo de CA19-9 (1, 2). Los niveles séricos de CA242 son bajos en sujetos sanos y en sujetos con enfermedades benignas, mientras que se encuentran con frecuencia niveles elevados en el suero de pacientes con cáncer gastrointestinal (3).

El marcador CA242 puede usarse como ayuda en el diagnóstico y tratamiento de pacientes con diagnóstico o sospecha de carcinomas gastrointestinales (4-9). El EIA CanAg Ca242 no debe usarse como sustituto de ninguna exploración clínica establecida de los tumores malignos, pero puede usarse como complemento a los métodos clínicos y de laboratorio existentes.

## PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El EIA CanAg CA242 es un inmunoensayo en fase sólida, no competitivo, basado en la técnica de sándwich directa. Los calibradores, los controles y las muestras de los pacientes se incuban junto con el anticuerpo monoclonal (MAb) anti-CA242 C241 biotinilado en microtiras revestidas con estreptavidina. El CA242 presente en los calibradores, controles o muestras es adsorbido en las microtiras revestidas con estreptavidina por el MAb anti-CA242 biotinilado durante la incubación. A continuación, las tiras se lavan e incuban con el MAb anti-CA242 marcado con peroxidasa de rábano (HRP). Después del lavado, se añade reactivo sustrato/ cromógeno tamponado (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 CA242 presente en las muestras.

Dicha intensidad 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 CA242 de las muestras de los pacientes a partir de la curva de calibración.

## REACTIVOS

- Cada kit EIA CanAg CA242 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
------------	----------	-----------------------------------------------------------

<b>MICROPLA</b>
-----------------

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

12 x 8 pocillos 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.

<b>Calibradores de CA242</b>	5 viales	2–8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en los viales
------------------------------	----------	-----------------------------------------------------------

<b>CAL</b>	<b>CA242</b>	<b>0</b>
------------	--------------	----------

0 U/mL 1 x 0,75 mL

<b>CAL</b>	<b>CA242</b>	<b>15</b>
------------	--------------	-----------

15 U/mL 1 x 0,75 mL

<b>CAL</b>	<b>CA242</b>	<b>50</b>
------------	--------------	-----------

50 U/mL 1 x 0,75 mL

<b>CAL</b>	<b>CA242</b>	<b>100</b>
------------	--------------	------------

100 U/mL 1 x 0,75 mL

<b>CAL</b>	<b>CA242</b>	<b>150</b>
------------	--------------	------------

150 U/mL 1 x 0,75 mL

Antígeno CA242 humano en una solución salina tamponada con Tris-HCl, que contiene albúmina sérica bovina, un colorante amarillo inerte y NaN<sub>3</sub> al 0,05% como conservante. Listo para su uso.

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

**Controles de CA242** 2 viales 2-8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en los viales

CONTROL	CA242	1
---------	-------	---

1 x 0,75 mL

CONTROL	CA242	2
---------	-------	---

1 x 0,75 mL

Antígeno CA242 humano en una solución salina tamponada con Tris-HCl, que contiene albúmina sérica bovina y NaN<sub>3</sub> al 0,05% como conservante. Listo para su uso.

BIOTIN	Anti-CA242
--------	------------

**Anti-CA242 con biotina** 1 x 15 mL 2-8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en el vial

Anticuerpo monoclonal anti-CA242 de ratón con biotina, aproximadamente 1,5 µg/mL. Contiene solución salina tamponada con Tris-HCl (pH 7,75) con albúmina sérica bovina, inmunoglobulina bovina, agentes bloqueantes, detergente, una coloración roja inerte y NaN<sub>3</sub> al 0,05% como conservante. Listo para su uso.

CONJ	Anti-CA242
------	------------

**Marcador, anti-CA242 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-CA242 de ratón con HRP, aproximadamente 40 µg/mL. Contiene conservantes. Para diluir con diluyente marcador antes de usar.

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

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

Solución salina tamponada (pH 7,2) con albúmina sérica bovina, inmunoglobulina bovina, agentes bloqueantes, detergente, 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
------	-----

<b>Sustrato TMB de HRP</b>	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
------

<b>Solución de parada</b>	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
---------	-----

<b>Concentrado de lavado</b>	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.

- Sólo para uso profesional.
- 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 ( $\text{NaN}_3$ ) 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 CA242 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 períodos más largos, se recomienda conservar las muestras a -20 °C o menos. Evite la congelación y descongelación repetidas de las muestras. Deje que las muestras congeladas se descongelen lentamente, preferiblemente 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, 3 y 6 ciclos de lavado con un volumen de llenado mínimo de 350 µL por pocillo y ciclo de lavado.

Se recomienda el lavador manual de tiras Nunc Immuno-8, si no se utiliza 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 de microlitros y mililitros.

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.

#### 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 CA242. 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 28 °C) antes de su uso. El ensayo sólo debe realizarse a temperaturas de entre 20 °C y 28 °C para obtener resultados exactos. Las muestras congeladas deben llevarse a temperatura ambiente lentamente y deben mezclarse suave pero concienzudamente después de la descongelación.
3. Antes de comenzar a pipetear los calibradores, los controles 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 períodos 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 preciso 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
<b>Solución de lavado</b>	2 semanas a 2-25 °C en un recipiente cerrado
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.	

<b>Solución de trabajo de marcador</b>	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-CA242 con HRP, con 1 mL de diluyente marcador por tira (véase la tabla siguiente):	

Número de tiras	Marcador, HRP Anti-CA242 (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 del marcador.

**Alternativa:** Vierta el contenido del marcador, anti-CA242 con HRP, en el vial de diluyente marcador y mezcle suavemente. Compruebe que todo el contenido del vial del marcador, anti-Ca242 con HRP, se transfiera al vial de diluyente marcador.

**NOTA:** La solución de trabajo del marcador es estable durante 3 semanas a 2–8 °C. No prepare más solución de trabajo de marcador que la que se usará en este período y asegúrese de que se conserva adecuadamente.

# Hoja de protocolo

EIA CanAg CA242 REF 101-10

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

Paso	Frasco/Placa	Procedimiento																																							
1.	WASHBUF 25X	Diluya 50 mL de concentrado de lavado con 1.200 mL de agua destilada o desionizada.																																							
	CONJ Anti-CA242 DIL CONJ	Mezcle 50 µL de marcador, anti-CA242 con HRP con 1 mL de diluyente de marcador por tira:																																							
		<table border="1"><thead><tr><th>Número de tiras</th><th>Marcador, anti-CA242 con HRP (µL)</th><th>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-CA242 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-CA242 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.	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 41 880">CAL</td> <td data-bbox="41 720 72 880">CA242</td> </tr> <tr> <td colspan="2" data-bbox="72 720 160 880">0, 15, 50, 100, 150</td> </tr> <tr> <td data-bbox="10 662 41 735">CONTROL</td> <td data-bbox="41 662 72 735">CA242</td> </tr> </table>	CAL	CA242	0, 15, 50, 100, 150		CONTROL	CA242	25 µL en cada pocillo
CAL	CA242							
0, 15, 50, 100, 150								
CONTROL	CA242							
4. Añada anti-CA242 con biotina	<table border="1"> <tr> <td data-bbox="160 720 207 880">BIOTIN</td> <td data-bbox="207 720 222 880">Anti-CA242</td> </tr> </table>	BIOTIN	Anti-CA242	100 µL en cada pocillo				
BIOTIN	Anti-CA242							
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	SUBS	100 µL en cada pocillo						
11. Incube	MICROPLA	Agitación durante 30 min a temperatura ambiente						
12. Lea la absorbancia	MICROPLA	620 nm						
Alt. 12. Añada la solución de parada	STOP	100 µL en cada pocillo						
Alt. 13. Incube	MICROPLA	Agitación durante 1 min a temperatura ambiente						
Alt. 14. Lea la absorbancia	MICROPLA	Lea el resultado a 405 nm antes de 15 min.						

## Procedimiento del ensayo

Realice cada determinación por duplicado para los calibradores, los controles 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 a preparar la solución de lavado y la solución de trabajo de 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 CA242 (CAL 0, 15, 50, 100, 150), los controles (C1, C2) y las muestras de 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 150	Desc. 2				
B	Cal 0	Cal 150	Desc. 2				
C	Cal 15	C1	etc.				
D	Cal 15	C1					
E	Cal 50	C2					
F	Cal 50	C2					
G	Cal 100	Desc. 1					
H	Cal 100	Desc. 1					

4. Añada 100 µL de Anti-CA242 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 el marco con las tiras durante 2 horas ( $\pm$  10 min) a temperatura ambiente (20 °C a 28 °C), con agitación constante de la placa usando un agitador de microplacas.
6. Tras la primera incubación, aspire y lave cada tira 3 veces usando el procedimiento de lavado descrito en las notas del procedimiento, apartado 4.

7. Añada 100  $\mu$ L 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 ( $\pm$  5 min.) a temperatura ambiente (20 °C a 28 °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  $\mu$ L 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 ( $\pm$  5 min) a temperatura ambiente, agitando constantemente. Evite la luz directa del sol.
12. Lea inmediatamente la absorbancia a 620 nm en un espectrofotómetro de microplacas.

### Opción

Si el laboratorio no tiene acceso a un espectrofotómetro de microplacas capaz de leer a 620 nm, la absorbancia puede determinarse como sigue:

- Alt.12. Añada 100  $\mu$ l 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 Ca242 mide concentraciones entre 1 y 150 U/mL. Si se espera obtener concentraciones de CA242 superiores al rango de medición, se recomienda diluir las muestras con suero humano normal antes del análisis. **NOTA:** El suero empleado para la dilución debe medirse también para determinar la concentración de CA242 endógeno (véase "Cálculo de los resultados").

### Control de calidad

Los controles 1 y 2 de CA242 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.

### Material de referencia

Como no se dispone de material de referencia común para el antígeno CA242, los valores de calibrador de EIA CanAg CA242 se asignan de acuerdo con una serie de estándares de referencia internos.

## CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

Si se usa un lector de espectrofotómetro de microplacas con programa de cálculo incorporado, consulte el manual del lector de placas y cree un programa usando la concentración indicada en las etiquetas de cada uno de los calibradores de CA242.

Para el cálculo automático de los resultados de CA242, 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 debe usarse una regresión lineal o paramétrica de grado 4.

Para la evaluación manual, se construye una curva de calibración representando los valores de absorbancia (A) para cada calibrador de CA242 frente a la concentración de CA242 correspondiente (en U/mL) (véase la figura más abajo). Las concentraciones de CA242 desconocidas pueden leerse después a partir de la curva de calibración usando el valor de absorbancia medio de cada muestra de paciente.

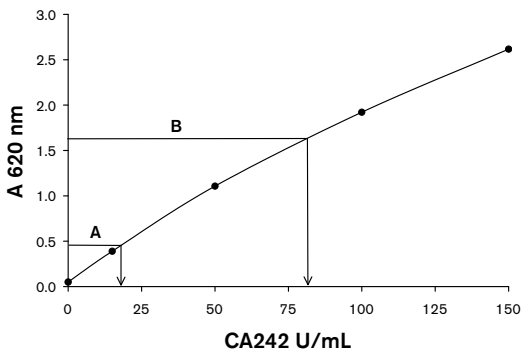
Si las muestras en un análisis inicial dan valores de CA242 superiores a 150 U/mL, deben diluirse 1/10 con suero humano normal y reanalizarse para obtener la concentración exacta de CA242. **NOTA:** La muestra empleada para la dilución debe medirse también para determinar la concentración de CA242 endógeno.

La concentración de CA242 de la muestra no diluida se calcula de la siguiente manera:

Dilución a 1/10:  $10 \times ([\text{CA242}]_{\text{Muestra diluida}} - (0,9 \times [\text{CA242}]_{\text{Suero normal}}))$

## Ejemplo de resultados

Muestra			Valores del calibrador	Valor de la abs. media (A)	CA242 (U/mL)
CAL	CA242	0	0 U/mL	0,050	
CAL	CA242	15	15 U/mL	0,390	
CAL	CA242	50	50 U/mL	1,107	
CAL	CA242	100	100 U/mL	1,922	
CAL	CA242	150	150 U/mL	2,617	
Muestra A				0,410	16,1
Muestra B				1,636	80,9



*Ejemplo (no use esta curva o la tabla anterior para determinar los resultados reales del ensayo).*

## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El nivel de CA242 no puede usarse como prueba absoluta de la presencia o ausencia de enfermedad maligna, y no debe utilizarse la prueba de CA242 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 CA242 no debe sustituir a ninguna exploración clínica establecida.

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

## VALORES ESPERADOS

Se analizaron muestras de suero de 184 donantes de sangre aparentemente sanos, 97 mujeres y 87 varones, dando un valor medio de  $8,5 \pm 7,6$  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:

Fracción	Límite de referencia (U/mL)	Intervalo de confianza del 95%
2,5° (inferior)	0	0-0
97,5° (superior)	29	25-44

El 93% de los sujetos sanos presentaron valores del análisis  $\leq 20$  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 (9).

## CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

### Precisión

La precisión total se determinó según la directriz EP5-A2 (10) del NCCLS utilizando cuatro niveles de suero humano agrupado y congelado que contenía CA242 añadido, de pacientes con cáncer gastrointestinal. Cada muestra se pipeteó aleatoriamente ( $n = 2/\text{análisis}$ ) y se analizó dos veces cada día durante 20 días. Los análisis se realizaron durante un período de 42 meses, por  $\geq$  dos técnicos distintos y utilizando 20 lotes diferentes de kit EIA CanAg CA242.

Muestra	Duplicados	Media (U/mL)	DE intraensayo (U/mL)	CV intraensayo, %	DE interdías (U/mL)	CV interdías, %
CA242 1	80	16,2	0,67	4,1	0,39	2.4
CA242 2	80	48,4	1,93	4,0	1,82	3.8
CA242 3	80	79,5	2,99	3,8	2,46	3.1
CA242 4	80	125	5,81	4,7	2.74	2.2

### Límite de detección

El límite de detección del kit EIA CanAg CA242 3 es  $< 1$  U/mL, definido como la concentración correspondiente a la media de los valores de absorbancia del calibrador 0 de CA242 más 2 desviaciones estándar, según la fórmula

$$\frac{2 \times \text{DE CAL 0}}{\text{DO CAL 15} - \text{DO CAL 0}} \times 15 \text{ U/mL}$$

### Recuperación

Se prepararon muestras de suero enriquecidas añadiendo antígeno CA242 humano a muestras de suero normales. La recuperación del antígeno añadido estuvo en el rango del 87% al 107%. **NOTA:** no deben realizarse estudios de recuperación usando los calibradores del kit.

### Efecto de gancho

No se ha observado efecto de gancho con muestras de hasta 150.000 U/mL. **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

Se diluyeron de forma seriada las muestras de los pacientes con suero humano normal al que se eliminaron los lípidos y se analizaron. Los valores obtenidos estuvieron en el rango de 97–108%.

## Especificidad

El EIA CanAg CA242 se basa en dos anticuerpos monoclonales de ratón, el MAb C241 captador que se dirige contra el Lewis<sup>a</sup> sialilado y el MAb detector C242 específico del epítipo CA242. Así pues, el ensayo determina los antígenos de S-Le<sup>a</sup> que contienen mucina y expresan el epítipo CA242. Se siguió la directriz EP7-P (11) del NCCLS para determinar posibles fuentes de interferencia. Se estudiaron las siguientes sustancias y concentraciones y se observó que no interfieren con la prueba.

---

	<b>Concentración sin interferencia significativa (<math>\pm</math> 10%)</b>
Lipemia (Intralipid®)	8 mg/mL
Bilirrubina no conjugada	0,6 mg/mL
Hemoglobina	5 mg/mL

---

## Comparación de métodos

Se ha comparado el EIA CanAg CA242 con el CA242 Delfia. Se analizaron 145 muestras de suero de donantes de sangre sanos y de pacientes con enfermedades malignas y no malignas, que iban en valores de 0 a 250 U/mL y los análisis de regresión lineal de los resultados dieron (4):

$$\text{EIA CanAg CA242} = 1,02 \times \text{CA242 Delfia} - 1,1 \quad r = 0,99$$

## **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. Johansson, C., Nilsson, O., Bäckström, D., Jansson, E.-L. and Lindholm, L. (1991) Novel Epitopes on the CA50-Carrying Antigen: Chemical and Immunochemical Studies, *Tumor Biol.*, 12, 159-179.
2. Johansson, C., Nilsson, O. and Lindholm, L., (1991) Comparison of Serological Expression of Different Epitopes on the CA50-Carrying Antigen CanAg, *Int. J. Cancer*, 48, 757-763.
3. Nilsson, O., Johansson, C., Glimelius, B., Persson B., Nørgaard-Pedersen, B., Andrén-Sandberg, Å., and Lindholm L. (1992): Sensitivity and specificity of CA242 in gastro-intestinal cancer. A comparison with CEA, CA50 and CA19-9. *Br J Cancer* 65, 215-221.
4. Dahlén U., Karlsson B., Lindholm L., Nilsson O., (1993) Development of an enzyme immuno-assay for determination of the tumour associated antigen CA242, *J. Tumor Marker Oncology* 8, 3, p 111.
5. Kawa, S., Tokoo, M., Hasebe, O., Hayashi, K., Imai, H., Oguchi, H., Kiyosawa, K., Furuta, S., and Homma, T.,(1994) Comparative study of CA242 and CA19-9 for the diagnosis of pancreatic cancer, *Br. J. Cancer*, 70, 481-486.
6. Von Kleist, Hesse, Kananeh, (1996) Comparative Evaluation of Four Tumor Markers, CA 242, CA 19-9, TPA, and CEA in Carcinomas of the Colon, *Anticancer Research* 16: 2325-2332.
7. Spila A, Ferroni P, Cosimelli M, D'Alessandro R, Abbolito MR, Mariotti S, Aloe S, Carone MD, Graziano F, Tedesco M, Martini F, Mancini R, Stigliano V, Roselli M, Guadagni F. (2001) Comparative analysis of CA 242 and CA 19-9 serum tumor markers in colorectal cancer patients. A longitudinal evaluation. *Anticancer Res.* Mar-Apr;21(2B):1263-70.
8. Carpelan-Holmström, M., Haglund, K., Lundin, J., Järvinen, H and Roberts, P., (1996) Pre-operative serum levels of CA 242 and CEA predict outcome in colorectal cancer. *Eur. J. Cancer* 32(7), 1156-1161.
9. Engarås B. (2003 ) Individual cutoff levels of carcinoembryonic antigen and CA 242 indicate recurrence of colorectal cancer with high sensitivity. *Dis Colon Rectum.* Mar;46(3):313-21.
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. Approved Guideline EP5-A (1999).
11. 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**

