

CA 125 Reagent Kit

Instruções de Uso

Ref.: 4028

ANVISA 10009010464

REF 4028-50, 50 testes/kit

REF 4028-100, 100 testes/kit

Uso pretendido. Detecção quantitativa automática in vitro do antígeno do câncer 125 (CA 125) no soro humano, para auxiliar no diagnóstico, monitoramento e prognóstico do câncer de ovário.

Uso profissional.

[Somente para uso diagnóstico in vitro]

Analizador. Equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Resumo. O antígeno do câncer 125 (CA 125), também conhecido como MUC16, é um membro da família de glicoproteínas semelhantes à mucina¹. Ele promove a metástase² tumoral e reduz a sensibilidade das células tumorais a agentes genotóxicos.³ O CA 125 é encontrado em concentrações mais elevadas em células de câncer de ovário. O CA 125 é elevado no soro de aproximadamente 80% dos pacientes com estágio avançado de câncer de ovário, enquanto apenas em 1-2 % dos indivíduos saudáveis⁴, neste sentido o CA 125 pode auxiliar no diagnóstico do câncer de ovário. Visto que apenas 25 - 50 % das mulheres em estágio I de câncer ovariano exibem níveis aumentados de CA 125⁵, falta-lhe a sensibilidade necessária e limiares de especificidade a serem usados para o diagnóstico da doença em estágio I e pela mesma razão, o CA 125 não é recomendado para a triagem da população geral⁶. Deve-se notar que o CA 125 pode estar presente em níveis elevados sob outras condições malignas e benignas, incluindo câncer de endométrio, câncer de tubas uterinas, câncer de pulmão, câncer de mama, câncer gastrointestinal, endometriose, distúrbios ovarianos, gravidez e condições inflamatórias intra-abdominal. O CA 125 pode ser considerado um fator prognóstico, uma vez que pacientes com altas concentrações pré-operatórias de CA 125 tem um taxa de sobrevida menor que 5 anos⁷. Além disso, a concentração de CA 125 pode ser usada como um indicador para monitorar os resultados terapêuticos. A presença de concentrações elevadas de CA 125 após a quimioterapia é associada a uma baixa resposta ao tratamento⁸. Outra aplicação do CA 125 é a detecção de recorrência do câncer, pois elevações de CA 125 podem preceder a evidência de recorrência clínica ou radiológica.

Princípio do teste. O ensaio CA 125 é um imunoensaio com princípio "sanduíche" para determinar a presença de CA 125 no soro humano usando a técnica de análise por quimioluminescência (CLIA).

Na primeira etapa, a amostra e as micropartículas paramagnéticas revestidas com anti-CA 125 são combinadas e incubadas. O CA 125 presente na amostra liga-se às micropartículas paramagnéticas revestidas com anti-CA 125. Após a lavagem, o conjugado (anti-CA 125 marcado com acridina) é adicionado na segunda etapa. Em seguida o conjugado não ligado é removido por outro ciclo de lavagem. Finalmente, as soluções de Pre-Trigger e Trigger são

adicionadas à reação, resultando numa reação quimioluminescente que é medida em Unidades Relativas de Luz (RLUs).

Existe uma relação direta entre a quantidade de CA 125 na amostra e as RLUs detectadas pelo equipamento automático dedicado aos reagentes de quimioluminescência da marca Labtest.

Reagentes

Reagentes - soluções de trabalho

REF	4028-50	4028-100
Testes por kit	50	100
R1	6,0 mL	11,0 mL
M	6,0 mL	11,0 mL
CAL1	0,5 mL	0,5 mL
CAL2	0,5 mL	0,5 mL
CONTROL 1	0,5 mL	0,5 mL
CONTROL 2	0,5 mL	0,5 mL
Tampas de silicone	2	2

R1 - Conjugado anti-CA 125 $\leq 0,6 \mu\text{g/mL}$ marcado com acridina $\leq 0,02 \text{ mg/mL}$ em tampão $\leq 7,272 \text{ g/mL}$, estabilizante, surfactante, conservante, bloqueador.

M - Micropartículas revestidas $\leq 0,036 \text{ g/mL}$ com anti-CA 125 $\leq 2,4 \mu\text{g/mL}$ em tampão $\leq 0,007 \text{ g/mL}$, surfactante, estabilizante, conservante.

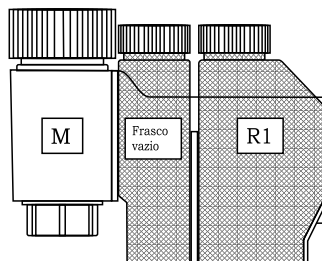
CAL 1 - Antígeno CA 125 em tampão $\leq 0,038 \text{ g/mL}$, estabilizante e conservante.

CAL 2 - Antígeno CA 125 em tampão $\leq 0,038 \text{ g/mL}$, estabilizante e conservante.

CONTROL 1 - Controle Positivo 1 (nível baixo): antígeno CA 125 em tampão $\leq 0,038 \text{ g/mL}$, estabilizante, conservante.*

CONTROL 2 - Controle Positivo 2 (nível alto): antígeno CA 125 em tampão $\leq 0,038 \text{ g/mL}$, estabilizante, conservante.*

*Para média e intervalo, ver item Valores especificados para os controles.



Advertências e precauções

- Apenas para uso de diagnóstico in vitro.
- Tome os cuidados habituais de segurança necessários para manipular todos reagentes de laboratório.
- O descarte de todo o material residual deve ser feito de acordo com as diretrizes locais.
- Ficha de segurança disponível no site www.labtest.com.br.
- Evite formação de espuma em todos os reagentes e tipos de amostras (amostra, calibradores e controles).
- Não use após a data de validade.
- Siga as recomendações de modo exato para resultados corretos.
- Não misture lotes de reagentes.
- Realizar a calibração do produto conforme o tópico "Calibração".
- Não utilizar o produto caso sejam observados sinais de contaminação.
- As cubetas são descartáveis e não devem ser reutilizadas.
- Não manusear o Reagent M próximo a campos eletromagnéticos intensos.
- Não separar o volume de nenhum dos componentes do kit em aliquotas.

Precauções de segurança

Cuidado . Como nenhum teste conhecido pode assegurar que amostras de sangue não transmitem infecções, todas elas devem ser consideradas como potencialmente infectantes. Portanto, ao manuseá-las deve-se seguir as normas estabelecidas para biossegurança.

Manuseio dos reagentes

1. Não retirar os frascos dos reagentes da rack.
2. Antes de carregar os reagentes no equipamento, homogeneizar suavemente por inversão e inspecionar visualmente o fundo do Reagent M para garantir que todas as partículas foram ressuspendidas. Após a mistura, coloque o reagente na posição vertical por 1 hora antes de usar, para garantir que as bolhas que possam ter se formado se dissipem. As bolhas podem interferir na detecção do nível de reagente no frasco e causar aspiração insuficiente, afetando negativamente os resultados.
3. Retire a tampa do R2 (frasco vazio) e substitua a tampa original dos reagentes R1 e M pelas tampas de silicone quando o reagente for carregado no equipamento automático.
4. A rack deve ser mantida na posição vertical, durante a utilização e armazenamento do kit.
5. Homogeneizar suavemente os calibradores e controles antes do uso.
6. Amostras, calibradores e controles não devem exceder o tempo total de 2 horas destampados e fora de refrigeração, devido a possíveis efeitos de evaporação. Recomenda-se que logo após a pipetagem os mesmos sejam retirados do equipamento e retornados a sua condição de armazenamento padrão.

Armazenamento e estabilidade . Não congele. Armaze o kit de reagentes (rack) na posição vertical para garantir a total disponibilidade das micropartículas durante a mistura automática antes do uso. Em caso de tombamento da rack de reagentes, realizar a

calibração e conferir a recuperação dos valores dos controles para garantir que o desempenho do produto não tenha sofrido alteração.

Estabilidade:

Fechado a 2-8 °C	até a data de validade apresentada
Aberto a 2-8 °C	45 dias
On board	28 dias

Indicações de deterioração dos reagentes . A deterioração dos reagentes pode ser indicada quando ocorre um erro de calibração ou um valor de controle está fora da faixa especificada. Os resultados dos testes associados são inválidos e as amostras devem ser testadas novamente após a realização de uma nova calibração.

Coleta e preparação de amostras . Utilizar soro coletado em tubos com ou sem gel separador. A amostra é estável por 3 dias a 20-25 °C, 5 dias a 4-8 °C, 3 meses a -20 °C.¹⁰

Centrifugue as amostras contendo precipitados antes de realizar o ensaio. Para obter resultados precisos, as amostras de soro devem estar livres de fibrina, glóbulos vermelhos e outras partículas. As amostras de soro de pacientes recebendo terapia anticoagulante ou trombolítica podem conter fibrina devido à formação incompleta do coágulo. Certifique-se de que as amostras, calibradores e controles estejam entre 20-25 °C antes da medição.

Deve ser criado um Procedimento Operacional Padrão (POP) que estabeleça procedimentos adequados para coleta, preparação e armazenamento da amostra. Enfatizamos que os erros pré-analíticos podem ser muito maiores que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

Procedimento

Materiais necessários e não fornecidos

1. Concentrated Wash Buffer Ref. 4001 ou Wash Buffer Ref. 4100.
2. Trigger Solution Ref. 4002.
3. Pre-Trigger Solution Ref. 4003.
4. System Maintenance Fluid Ref. 4004.
5. Sample Diluent A Ref. 4060.
6. Cubetas de reação para equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Procedimento de ensaio . Todas as informações necessárias para a operação correta são lidas pelo equipamento a partir dos respectivos códigos de barras e *QR Code*. Para um melhor desempenho do ensaio, consulte o manual do usuário para obter instruções específicas do analisador. Após a etapa de homogeneização e repouso de 1 hora insira os reagentes na bandeja de reagentes do analisador. O sistema regula automaticamente a temperatura dos reagentes. O volume de amostra necessário para a realização de um teste é de 10 µL. Este valor não leva em consideração o volume morto e volume adicional na pipetagem da amostra, estes valores estão descritos no manual do equipamento.

Calibração . Rastreabilidade: Este método é rastreável a referência interna que passou por uma atribuição de valor utilizando outro ensaio disponível comercialmente.

Todo kit de CA 125 Reagent Kit Ref. 4028 é rotulado com um *QR Code* contendo informações específicas de calibração por lote. A *Master Curve* predefinida é adaptada ao analisador usando dois calibradores que acompanham o kit.

Os controles (CONTROL 1 e CONTROL 2) devem ser ensaiados para avaliar a calibração do produto. Depois que uma calibração é aceita e armazenada, todas as amostras subsequentes podem ser testadas sem calibração adicional.

Uma nova calibração deve ser realizada nas seguintes condições:

- Um kit de reagente com um novo número de lote for utilizado;
- Quando os controles da qualidade não atenderem os limites estabelecidos;
- Depois de 14 dias, quando utilizado o mesmo lote de reagente;
- Após a manutenção de peças ou subsistemas críticos, ou, após a execução dos procedimentos de serviço no analisador.

Controle da qualidade . O laboratório deve manter um programa de controle interno da qualidade que defina claramente os regulamentos aplicáveis, objetivos, procedimentos, critérios para especificações da qualidade e limites de tolerância, ações corretivas e registro das atividades. Materiais de controle devem ser utilizados para monitorar a imprecisão da medição e desvios da calibração. Recomenda-se utilizar os controles da qualidade CONTROL 1 e CONTROL 2 contidos no kit para controle interno da qualidade.

Valores especificados para os controles . Os valores especificados para o CONTROL 1 e para o CONTROL 2 podem ser encontrados após a leitura de seu *QR Code*, presente na rack de reagente, pelo equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Para o equipamento Vercentra CS-1500: após a leitura do *QR Code*, deve-se clicar no ícone CTL, que é a interface de Controle da Qualidade, e selecionar o parâmetro a ser analisado. Para consultar o limite superior UL (*Upper Limit*), o inferior LL (*Lower Limit*) e a média (*Target*), deve-se selecionar o nível e o lote de controle que será avaliado.

Para outros modelos de equipamentos, dedicados aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest: consultar o manual do usuário.

Esses valores também podem ser encontrados no certificado de análise de cada lote do produto que está disponível no site www.labtest.com.br.

Resultados

Cálculo . O ensaio CA 125 utiliza um método de redução de dados com adaptação da curva logística de 4 parâmetros (4PLC, Y-ponderado) para gerar a calibração e resultados.

Procedimentos de diluição de amostra . Amostras com

concentrações de CA 125 acima da faixa de medição podem ser diluídas com Sample Diluent A Ref. 4060. A diluição recomendada é 1:5 (automática pelo equipamento ou manualmente). Após a diluição manual, multiplique o resultado pelo fator de diluição. Após a diluição pelos analisadores, o software considera automaticamente a diluição ao calcular a concentração da amostra.

Limitações do procedimento

- Os resultados devem ser usados em conjunto com outros dados, por exemplo, sintomas, resultados de outros testes e dados clínicos.
- Se os resultados de CA 125 forem inconsistentes com as evidências clínicas, testes adicionais são recomendados.
- O valor de CA 125 deve ser usado em conjunto com outros procedimentos de diagnóstico. O ensaio CA 125 não deve ser usado como teste de triagem de câncer.
- Amostras de pacientes que receberam preparações de anticorpos monoclonais de camundongos para diagnóstico ou terapia podem conter anticorpos humanos anti-camundongos (HAMA)¹¹. Essas amostras podem mostrar valores falsamente elevados ou baixos quando testadas com kits de ensaio, como CA 125, que emprega anticorpos monoclonais de camundongo. Informações clínicas ou diagnósticas adicionais podem ser necessárias para determinar o estado do paciente.
- Anticorpos heterofílicos¹² no soro humano podem reagir com imunoglobulinas, interferindo nos imunoenaios in vitro. Pacientes rotineiramente expostos a animais ou a produtos de soro animal podem ser propensos a essa interferência, e valores anômalos podem ser observados. Informações adicionais podem ser necessárias para o diagnóstico.

Características de desempenho . Dados de desempenho representativos são fornecidos nesta seção. Os resultados obtidos em laboratórios individuais podem variar.

Limites inferiores de medição . O Limite do Branco $\leq 0,03$ U/mL foi obtido através de 60 replicatas de uma amostra sem analito. Os limites foram determinados de acordo com o CLSI EP17-A2.¹³

O Limite de Detecção 0,05 U/mL foi determinado com base no Limite do Branco e no desvio padrão de uma amostra de baixa concentração ($n=20$).

O Limite de Quantificação de 1,0 U/mL foi obtido utilizando a menor concentração de analito que pode ser medida de forma reprodutível com $CV \leq 20\%$.¹³

Faixa de medição . 1,00 – 2000,00 U/mL. Valores abaixo do limite de quantificação são reportados como $< 1,00$ U/mL. Valores acima da faixa de medição são reportados como $> 2000,00$ U/mL.

Estudo de comparação de métodos . O método proposto foi comparado com o método de tecnologia similar, sendo obtidos os seguintes resultados:

	Método Comparativo	Método Labtest
Número de amostras	50	
Equação da regressão	Método Labtest = 1,0576x Método comparativo + 0,3481	
Coefficiente de correlação	0,9993	

Utilizando a equação da regressão, o Erro Sistemático (Bias) foi igual a 6,8 % e 5,8 % em concentrações de 35 e 500 U/mL, respectivamente. Os resultados do estudo comparativo atendem à especificação do erro sistemático ($\leq 10\%$).

Valores esperados . A concentração de CA 125 em soro de pacientes saudáveis é de $\leq 35,00$ U/mL.¹⁴

Cada laboratório deve investigar a adequação dos valores esperados para sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar seus próprios intervalos de referência.

Imprecisão . Os estudos de imprecisão foram realizados utilizando três amostras.

Repetibilidade – imprecisão intraensaio

	N	Média (U/mL)	DP	CV (%)
Amostra 1	20	140,72	3,86	2,74
Amostra 2		32,61	0,60	1,85
Amostra 3		563,26	7,51	1,33

Reprodutibilidade - imprecisão total

	N	Média (U/mL)	DP	CV (%)
Amostra 1	40	141,85	2,35	1,65
Amostra 2		33,74	0,71	2,10
Amostra 3		581,25	12,33	2,12

Os resultados indicam que o método atende a especificação desejável para Coeficiente de Variação ($\leq 10\%$ para reprodutibilidade e $\leq 8\%$ para repetibilidade).¹⁵

Interferência

O CA 125 Reagent Kit Ref. 4028 não apresentou interferência significativa das substâncias citadas a seguir.

Substâncias	Concentrações
Hemoglobina	$\leq 3,2$ g/dL
Bilirrubina	≤ 66 mg/dL
Triglicérides	≤ 2000 mg/dL
Biotina	≤ 100 ng/mL

Referências

- Yin, B. W. T., Dnistrian, A. & Lloyd, K. O. Ovarian cancer antigen CA125 is encoded by the MUC16 mucin gene. International Journal of Cancer 98, 737–740 (2002).
- Gubbels, J. A. A., Belisle, J., Onda, M., et al. Mesothelin-MUC16 binding is a high affinity, N-glycan dependent interaction that

facilitates peritoneal metastasis of ovarian tumors. Mol Cancer 5, 50 (2006).

- Boivin, M., Lane, D., Piché, A. & Rancourt, C. CA125 (MUC16) tumor antigen selectively modulates the sensitivity of ovarian cancer cells to genotoxic drug-induced apoptosis. Gynecol Oncol 115, 407–413 (2009).
- Bast, R. C., Klug, T. L., St John, E., et al. A Radioimmunoassay Using a Monoclonal Antibody to Monitor the Course of Epithelial Ovarian Cancer. New England Journal of Medicine 309, 883–887 (1983).
- Togashi, K. Ovarian cancer: the clinical role of US, CT, and MRI. Eur Radiol 13 Suppl 4, L87-104 (2003).
- Duffy, M. J., Bonfrer, J. M., Kulpa, J., et al. CA125 in ovarian cancer: European Group on Tumor Markers guidelines for clinical use. International Journal of Gynecologic Cancer 15, (2005).
- Hennessy, B., Bast, R. C., et al. Early Detection of Cancer: Molecular Screening. In The Molecular Basis of Cancer, 335-347 (2008).
- Sölétormos, G., Duffy, M. J., Othman Abu Hassan, S., et al. Clinical Use of Cancer Biomarkers in Epithelial Ovarian Cancer. Int J Gynecol Cancer 26, 43–51 (2016).
- Partridge, E. E. & Barnes, M. N. Epithelial ovarian cancer: prevention, diagnosis, and treatment. CA Cancer J Clin 49, 297–320 (1999).
- World Health Organization. Diagnostic Imaging and Laboratory Technology. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/65957>. (2002).
- Nussbaum S, Roth HJ. Human anti-mouse antibodies: pitfalls in tumor marker measurement and strategies for enhanced assay robustness; including results with Elecsys CEA. Anticancer Res. 2000 Nov-Dec;20(6D):5249-52. PMID: 11326704.
- Ward G, McKinnon L, Badrick T, Hickman PE. Heterophilic antibodies remain a problem for the immunoassay laboratory. Am J Clin Pathol. 1997 Oct;108(4):417-21. doi: 10.1093/ajcp/108.4.417. PMID: 9322595.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation Approved Guideline - Second Edition. CLSI document EP17-A. Wayne, PA (2004).
- Bast, R.C.; Klug, T.L.; John, E.S.; Jenison, E.; Niloff, J.M.; Lazarus, H.; Berkowitz, R.S.; Leavitt, T.; Griffiths, C.T.; Parker, L.; et al. A radioimmunoassay using a monoclonal antibody to monitor the course of epithelial ovarian cancer. N. Engl. J. Med. 1983, 309, 883–887.
- Pharmaceutical Industry Standard of the People's Republic of China. YY/T 1161-2009. Tumor Associated Antigen CA 125 Quantitative Detection Reagent (Kit) (Chemiluminescent Immunoassay). (2011).

16. Labtest: Dados de arquivo.

Para informações sobre outras apresentações comerciais consulte o site www.labtest.com.br ou entre em contato com o SAC.

Informações ao consumidor

[Termos e Condições de Garantia]

A **Labtest Diagnóstica** garante o desempenho deste produto, dentro das especificações, até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções sejam seguidos corretamente.

Labtest Diagnóstica S.A.

CNPJ: 16.516.296/0001-38

Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP: 33240-152

Lagoa Santa, Minas Gerais - Brasil - www.labtest.com.br

Serviço de Apoio ao Cliente | 0800 031 3411 (Ligação Gratuita)
e-mail: sac@labtest.com.br

Edição: Outubro, 2024

Revisão: -

Ref.: 240725(02)

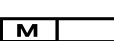
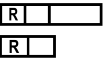
Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.

Reprodução sob prévia autorização

Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro

Symbols used with IVD devices

	Conteúdo suficiente para < n > ensaios Contenido suficiente para < n > ensayos Sufficient content for < n > trials		Risco biológico Riesgo biológico Biological risk
	Prazo de validade (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa) Fecha de expiración (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Expiration date (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		Corrosivo Corrosivo Corrosive
	Limite de temperatura (conservar a) Temperatura límite (conservar a) Temperature limit (store at)		Tóxico Tóxico Poison
	Representante Autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		Marca CE Marcado CE CE Mark
	Carcinogénico/mutagénico e/ou sensibilizante à respiração Carcinogénico/mutagénico y/o sensibilizante respiratorio Carcinogenic/mutagenic and/or respiratory sensitizer		Atenção Atención Attention
	Tóxico para os organismos aquáticos Tóxico para los organismos acuáticos Toxic for aquatic organisms		Data de fabricação Fecha de fabricación Date of manufacture
	Gases/líquidos combustíveis Gases/líquidos oxidantes Oxidizing gases/liquids		Fabricante Fabricante Manufacturer
	Substância inflamável Sustancia inflamable Flammable substance		Uso veterinário Uso veterinario Veterinary use
	Período após abertura Período post-abertura Period after-opening		Liofilizado Liofilizado Lyophilized
	Produto de uso único Producto de un solo uso Single use product		Número do lote Denominación de lote Batch code
	Consultar instruções de uso Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		Número do catálogo Número de catálogo Catalog Number
	Instalar até Instalar hasta Install before		Controle Control Control
	Material Calibrador/Padrão Material Calibrador/Estándar Calibrator/Standard Material		Controle negativo Control negativo Negative control
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro Dispositivo médico para diagnóstico in vitro In vitro diagnostic medical device		Controle positivo Control positivo Positive control
	Reagente contendo micropartículas Reactivo con micropartículas Reagent with microparticles		Reagente Reactivo Reagent
	Identificador único do dispositivo Identificador único del dispositivo Unique device identifier		Pré-Tratamento Pretratamiento Pre-Treatment

Ref.: 160125 |