

INDICACIONES DE USO

Inmunoensayo para la determinación cuantitativa del antígeno enzimático carcino-embriionario. Agente de diagnóstico in vitro para uso exclusivo de laboratorio clínico o de gabinete.

RESUMEN Y APLICACIÓN

El Antígeno Carcino-Embriionario (CEA) es una glicoproteína de 180 kD que se encuentra en grandes concentraciones en el feto, pero no se encuentra normalmente presente en suero de individuos adultos atento que la síntesis de esta proteína cesa luego del parto. Sin embargo, reaparece en grandes concentraciones en el suero de pacientes con carcinoma colorectal (57%), gástrico (41%), hepatocelular (45%), pancreático (59%) y biliar (59%). La concentración de CEA también puede verse elevada por enfermedades no cancerígenas del colon (inflamación intestinal 17%), del estómago (gastritis crónica y úlcera péptica 14%), del hígado (cirrosis y hepatitis 17%) y del páncreas (21%). También se han observado elevados niveles de CEA en pacientes con enfermedades inflamatorias no cancerígenas como enfisema pulmonar, cirrosis alcohólica, pancreatitis y fumadores crónicos. En contraste con aquellos casos de cáncer, estas elevaciones de CEA son transitorias. Los niveles de CEA en suero descienden a niveles normales en pocas semanas. El uso principal del ensayo de CEA es para monitoreo de pacientes post cirugía para carcinoma colorrectal recurrente. CEA en suero tiene una sensibilidad de entre 60% y 95% para la detección de recurrencias previo a la detección clínica y un tiempo de anticipación de entre 2 y 10 meses (Valor predictivo positivo 65%, valor predictivo negativo 70%). Resultados de falso positivo se dan generalmente por debajo de 10.0 ng/ml.

DESCRIPCION

El CEA es una fase sólida directa sándwich. ELISA. Las muestras de diluyen con el conjugado anti-CEA-HRP se añaden a los pocillos recubiertos con estreptavidina. El CEA en el suero del paciente se une al CEA en las muestras de pacientes forma sándwich entre dos anticuerpos específicos al CEA. Las proteínas no unidas y el conjugado HRP son lavados por la solución de lavado. Tras la adición del sustrato, la intensidad del color es proporcional a la concentración de CEA de las muestras.

MATERIALES PROVISTOS Ref: 6001423	96 Pruebas
1. Placa de 96 pozos	1
2. Estándar 7 viales con concentraciones	0.5ml
3. Reactivo de enzima conjugada 1 vial	12 ml
4. Solución TMB: 1 vial	12ml
5. Solución de Frenado: 1 vial	12ml
6. Solución de Lavado Concentrado 20X: 1 vial	25ml

Nota: Los reactivos una vez abiertos se mantienen estables por 60 días a una temperatura de entre 2°C a 8°C.

MATERIALES REQUERIDOS, PERO NO PROVISTOS

1. Agua destilada o desionizada.
2. Pipetas de precisión.
3. Puntas de pipetas desechables.
4. Lector Microelisas con lente a 450 nm de longitud de onda con una banda de amplitud de 10nm o menor y un rango de densidad óptica de 0-2 OD o mayor.
5. Papel absorbente o toalla de papel.
6. Papel cuadrículado.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

1. Almacene el kit a una temperatura de entre 2°C-8°C.
2. Mantenga las tiras de los pocillos selladas en la bolsa de aluminio.
3. Todos los compuestos son estables hasta su fecha de expiración siempre y cuando las condiciones de almacenaje sean estrictamente llevadas a cabo como aquí se indica.
4. No exponga los reactivos al calor, luz solar o intensa luz eléctrica.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Potencial de los materiales de riesgo biológico: Los calibradores contienen componentes de origen humano, que se han sido probados y encontrados no reactivos para el antígeno de superficie de hepatitis B y anticuerpos contra el VIH Aprobado por la FDA. Sin embargo, no hay método de prueba que puede ofrecer completa seguridad de que el virus VIH, Hepatitis B u otros agentes infecciosos estén presentes. Estos reactivos deben ser manejados según el Nivel de Bioseguridad 2, como se recomienda en los Centros para el Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de Salud manuales. "Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos" 1984.
2. No pipetee con la boca. No fume, coma, o beba en el área donde maneje este equipo.
3. Los componentes en este equipo son para uso como una unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no se deben mezclar.
4. Es recomendable que los estándares, controles y muestras de suero se corran por duplicado.
5. Para obtener óptimos resultados, debe apegarse estrictamente al protocolo. Pipeteado exacto y preciso, así como después de la hora exacta y requerimientos de temperatura prescritos son esenciales. Cualquier desviación de este puede resultar en datos no válidos.

RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

1. Recolecte sangre por venopunción y separe el suero de inmediato.
2. En caso de no llevar a cabo el examen inmediatamente, refrigere la muestra a una temperatura de (2°C a 8°C) por cinco días. En caso de exceder dicho plazo, congele a -20°C hasta un mes.
3. Evite múltiples ciclos de congelamiento-descongelamientos de la muestra.
4. Previo al ensayo, la muestra deberá ser debidamente descongelada y mezclada.
5. Evite utilizar muestras con exceso de lípidos.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

1. Preparar solución de lavado a 1x adicionando 475 ml de agua destilada o desionizada al frasco de (25 ml a 20x). Conservar a temperatura ambiente.
2. Conservar a una temperatura de entre 2°C a 8°C.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Previo al ensayo, permita que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente (18°-23°C). Mezcle suavemente los reactivos antes de su uso.

1. Corte el número de pozos a utilizar. Cierre y selle el resto de los micropocillos no utilizados y refrigérelos a 2-8°C.
2. Vierta 25 µl de estándares de CEA, especímenes y controles en los pozos apropiados.

3. Vierta 100 µl de conjugado reactivo anti-CEA en todos los pocillos. Agite el platillo por 10-30 segundos.
4. Cubra e incube a temperatura ambiente por 60 minutos (18-23°C).
5. Retire el líquido de los pocillos. Enjuague y lave los pocillos tres veces con 300 µl de solución de lavado de 1X. Golpee la placa de los micro pocillos sobre el papel absorbente para remover las gotas de agua residuales.
6. Vierta 100 µl de sustrato TMB en todos los pocillos.
7. Cubra e incube a temperatura ambiente por 15 minutos.
8. Frene la reacción agregando 50 µl de solución de frenado a cada pozo. Sacuda gentilmente para facilitar el mezclado de la solución.
9. Lea la densidad óptica a 450 nm con un lector de placa de micro valoración en un plazo de 15 minutos después de haber agregado la solución de frenado.

CÁLCULO DE RESULTADOS

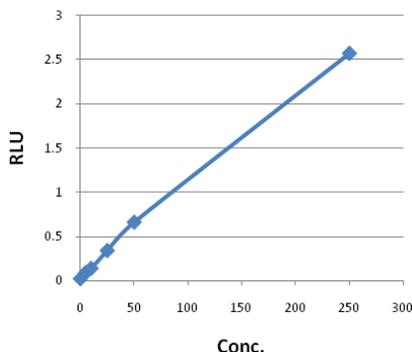
La curva estándar se construye de la siguiente manera:

1. Compruebe el valor estándar de CEA en cada vial estándar. Este valor puede variar de lote a lote. Asegúrese de verificar el valor de cada kit. Véase el ejemplo de la norma adjunta.
2. Para construir la curva estándar, trazar la absorbancia para el estándar de CEA (eje vertical) frente a las concentraciones estándar de CEA (eje horizontal) en un papel gráfico lineal. Dibuje la mejor curva a través de los puntos.
3. Utilice el valor de absorbancia de los controles y de cada muestra desconocida para determinar la concentración correspondiente de CEA desde la curva estándar.

Ejemplo de la curva estándar:

	OD 450 nm	Conc. ng/ml
Std 1	0.023	0
Std 2	0.092	5
Std 3	0.139	10
Std 4	0.340	25
Std 5	0.660	50
Std 6	1.437	100
Std 7	2.564	250

Standard Curve



VALORES ESPERADOS Y SENSIBILIDAD

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios rangos normales sobre la base de una muestra representativa de la población local. Los siguientes valores de CEA pueden usar rangos utilizados solo como guía:

Clasificación	Rango Normal (ng/ml)
No Fumadores	0.0 - 5.0
Fumadores	1.0 - 7.0

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. No utilice acido de sodio como preservante ya que inhibe la actividad de la enzima HRP.

REFERENCIAS

1. Bates SE. Clinical applications of serum tumor markers. Ann Intern Med 1991; 115:623-38.
2. Kuusela P, Haglunk C, Roberts PJ. Comparison of a new tumour marker CA 242 with CA 19- 9, CA 50 and carcinoembryonic antigen (CEA) in digestive tract diseases. Br J Cancer 1991; 63:636-40.
3. Nilsson O, Johansson C, Glimelius B, et al. Sensitivity and specificity of CA242 in gastro- intestinal cancer. A comparison with CEA, CA50 and CA 19-9. Br J Cancer 1992; 65:215-21.
4. Barillari P, Bolognese A, Chirletti P, et al. Role of CEA, TPA, and CA 19-9 in the early detection of localized and diffuse recurrent rectal cancer. Dis Colon Rectum 1992; 435:471-6.
5. Camuñas J, Enriquez JM, Devesa JM, et al. Value of follow-up in the management of recurrent colorectal cancer. Eur J Surg Oncol 1991; 17:530-5.
6. Moertel CG, Fleming TR, Macdonald JS, Haller DG, Laurie JA, Tangen C. An evaluation of the carcinoembryonic antigen (CEA) test for monitoring patients with resected colon cancer. JAMA 1993; 270:943-7.
7. Chevinsky AH. CEA in tumors of other than colorectal origin. Semin Surg Oncol 1991; 7:162-6.