

PATHOZYME® CARCINOEMBRYONIC ANTIGEN Ref OD317

Immuno análisis (EIA) de enzima para la determinación cuantitativa de CEA en el suero humano.

Almacenar entre 2 °C y 8 °C. No congelar.

Para uso exclusivo en diagnostico in vitro.

INTRODUCCION

El antígeno carcinoembrionario es un antígeno oncofetal. Es una glicoproteína con un peso molecular de 200000 Da. Se ha asociado el suero CEA elevado con muchos cánceres incluyendo el de pulmón, hígado, páncreas, seno, colon, próstata, estómago y ovario. Se recomienda en muchas de estas condiciones, que las medidas del suero CEA sean efectuadas en conjunto con los marcadores de tumores mas tradicionales.

En los casos de cancer del colon, el 80% de los pacientes tienen niveles elevados del suero CEA. Sin embargo, debe usarse esta prueba de sangre junto con toda la evidencia clínica ya que las condiciones benignas también pueden causar una medida ligeramente elevada del CEA, como por ejemplo la enfermedad del hígado. Se elevan los niveles del CEA en el cancer del pulmón en un 67% de los casos de cancer del pulmón de célula no-pequeña y en un 33% de los casos de cancer del pulmón de célula-pequeña.

Se ha determinado el nivel de CEA a una relación directa de la etapa y a la extensión de la enfermedad. Por consiguiente, el CEA es muy útil para monitorear el curso del tratamiento para los pacientes con cancer. Recientemente se ha declarado que el CEA es la mejor herramienta no invasiva para el monitoreo de los pacientes con cancel colorectal. El nivel pre-operativo del CEA tiene también un buen valor prognóstico en los cánceres del colon y seno, altos niveles preoperativos y una prognosis pobre.

USO PRETENDIDO

El **PATHOZYME CEA** es un immuno-analisis (EIA) para determinar cuantitativamente el antígeno carcinoembrionario (CEA) en el suero humano. Es para uso profesional únicamente.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

Se cubren los pozos de micro análisis volumétrico con anticuerpos monoclonales específicos anti-CEA. Los anticuerpos específicos monoclonales anti-CEA. Luego se aplica el suero de prueba. Se añade enseguida el monoclonal anti-CEA etiquetado con la enzima HORSERADISH peroxidado (conjugado). Si está presente en la muestra el CEA humano se combinará con el anticuerpo en el pozo y con la enzima conjugada. Esto da como resultado que las moléculas del CEA se coloquen entre la fase sólida y los anticuerpos enzimas conectados. Después de la incubación se lavan los pozos con agua destilada para retirar los anticuerpos etiquetados no unidos. Además del sustrato, (TMB) se desarrollará un color solamente en los pozos que tienen la enzima indicando así la presencia del CEA. La reacción de la enzima es detenida al añadir ácido clorhídrico y luego se mide la absorción a 450nm. La concentración del CEA es directamente proporcional a la intensidad del color de la muestra de prueba.

Esta prueba se ha calculado contra los estándares de la casa. No existe un estándar internacional para esta prueba.

CONTENIDO

Ref
OD317



Microtitre Plate	12 x 8 pozos x 1		
Pozos rompibles cubiertos con anticuerpo específico contenidos en una bolsa resellable de hojilla metálica con desecante.			
Cal A	0 ng/ml	1 ml	
Referencia estándar: Suero humano libre de CEA. Listo para su uso. (Incoloro).			
Cal B	3 ng/ml	1 ml	
Referencia estándar: El CEA diluido en suero humano, Listo para su uso. (Incoloro).			
Cal C	12 ng/ml	1 ml	
Referencia estándar: El CEA diluido en suero humano, Listo para su uso. (Incoloro).			
Cal D	30 ng/ml	1 ml	
Referencia estándar: El CEA diluido en suero humano, Listo para su uso. (Incoloro).			
Cal E	60 ng/ml	1 ml	
Referencia estándar: El CEA diluido en suero humano, Listo para su uso. (Incoloro).			
Cal F	120 ng/ml	1 ml	
Referencia estándar: El CEA diluido en suero humano, Listo para su uso. (Incoloro).			
Conj		11 ml	
Conjugado Anti-CEA HRP: Listo para su uso (Rosado)			
Subs	TMB	11 ml	
Solución de sustrato: : 3,3', 5,5' Tetramethyl Benzidina en BUFFER de citrato. Listo para su uso. (Incoloro).			
Soln	Stop HCl	1M	11 ml
Solución de paro: Acido Clorhídrico diluido en agua purificada. Lista para su uso (Incolora)			

Folleto de Instrucciones y hoja de registro de datos EIA 1 + 1

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

Micropipetas 100µl, 200µl y 1000µl
Puntas de pipeta desechables
Papel absorbente
Lector de micro placa con filtro 450 nm.
Papel gráfico
Cristalería de laboratorio totalmente limpia.

PRECAUCIONES

El **PATHOZYME CEA** contiene materiales de origen humano los cuales han sido probados como negativo para los anticuerpos HCV, HIV 1 y 2 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 **PATHOZYME CEA** 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 bio peligrosos tanto en su utilización como en su eliminación. La eliminación final se debe efectuar en concordancia con la legislación local.

La solución de paro **PATHOZYME CEA** es ácido clorhídrico diluido y por consiguiente es corrosivo. Maneje con cuidado. En caso de contacto, lave con abundante agua.

Los reactivos del **PATHOZYME CEA** 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 Limited.

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 CONGEELE 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 hemolizado ni lipémico 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.

LIMITACIONES PARA EL USO

No se ha validado para esta prueba el uso de muestras diferentes al suero. Tampoco existe un protocolo de utilización 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.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. 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.
2. Se debe 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.
3. 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.
4. Distribuya 20µl del suero de prueba y de estándares en los pozos asignados.
5. Dispense 100µl del conjugado anti-CEA HRP a cada pozo y mezcle por 30 segundos. Es muy importante mezclar totalmente en este momento.
6. Incube la placa por 30 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
7. Al final del periodo de incubación descarte el contenido de los pozos sacudiendo las placas a un contenedor bio-peligroso. Enseguida golpee los pozos con firmeza contra papel absorbente. Asegure que haya suficiente desinfectante en el contenedor bio-peligroso.
8. Lavada manual: Llene los pozos con un mínimo de 300µl de agua destilada en cada uno. Pase el contenido de la placa a un contenedor bio-peligroso. Luego golpee los pozos firmemente contra papel absorbente. Luego lave los pozos desocupados 5 veces.
9. Golpee los pozos firmemente contra papel absorbente o contra una toalla de papel para retirar todas las gotitas de agua residual.
10. Lavado a máquina: Asegúrese de que haya 300µl de agua destilada por cada pozo y que se añada un desinfectante apropiado a la botella recolectora de desperdicio. Lave los pozos desocupados 5 veces. Después de lavar, retire el exceso de fluido golpeando los pozos firmemente contra papel absorbente o contra una toalla de papel para retirar toda el agua residual en gotitas.
11. Distribuya 150µl de solución de sustrato a cada pozo y mezcle suavemente por cinco segundos.
12. Incube por 30 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
13. Incube en la oscuridad por 20 minutos a temperatura ambiente. (20°C a 25°C).
14. Pare la reacción añadiendo 100µl de solución de paro a cada pozo.
15. Mezcle suavemente por 30 segundos para asegurar que el color azul cambia completamente a color amarillo.
16. Lea la densidad óptica de forma inmediata (no mas tarde de 10 minutos) usando un lector de microplaca con un 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 éste 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

La gráfica producida por los calibradores deberá ser de forma hiperbólica con el OD450 de los calibradores proporcional a su concentración. El OD del calibrador A deberá ser menor de 0.75 y el OD del calibrador F mayor a 1.5 para que los resultados del análisis sean válidos. Calcule el valor de la absorción media plotando la absorbencia media de cada estándar contra su concentración en ng/ml sobre el papel gráfico. Use los valores de absorción media para cada espécimen para poder determinar la concentración correspondiente del CEA en ng/ml sacado de la curva estándar. Si los niveles de control de las muestras de usuarios conocidas no dan los resultados esperados, éstos deben considerarse no válidos. Si se usa el paquete de software, escoja un encaje de curva de regresión cuadrática.

VALORES ESPERADOS Y SENSIBILIDAD

El mas completo estudio del CEA es una compilación de estudios en colaboración en los cuales fueron analizados los valores del CEA en 35.000 muestras tomadas de mas de 10.000 pacientes y controles. De 1.425 personas no fumadoras, el 98.7% tuvieron valores de menos de 5.0 ng/ml. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal. La concentración mínima detectable del CEA por el PATHOZYME CEA se estima en 1.0 ng/ml.

DATOS EVALUATIVOS

Calibrado contra los competidores más importantes y contra los estándares de la casa.

El coeficiente de variación del PATHOZYME CEA es menor o equivalente a un 10%.

En una evaluación entre el kit PATHOZYME CEA de Omega y el kit Abbott AXSym CEA para muestras con niveles entre 0.2 y 50400 bg/ml arrojaron muy buena correlación.

REFERENCIAS

- (1) Gold, P., Freedman, S. O. Demonstration of tumour specific antigen in human colonic carcinoma by immunologic tolerance and absorption techniques. *J. Exp. Med.* 1965;127:439-462.
- (2) Thompson, D. P. M., Krupcy, J., Freedman, S. O. et al. The radioimmunoassay of circulating Carcinoembryonic antigen of the human digestive system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1969;64:161-167.
- (3) Schwartz, M. K. Tumour Markers in diagnosis and screening. In Ting, S. W., Chen, J. S., Schwartz, M. K. (eds.), *Human Tumour Markers*. Amsterdam: Elsevier Science, 1987;3-16.
- (4) Zamcheck, N. and Martin, E. W. Sequential Carcinoembryonic Antigen levels in Pancreatic Cancer: Some Clinical Correlations. *Cancer*. 1981;47:1620-1627.
- (5) Mughal, A. W., Hortobagyi, G. N., Fritsche, H. A., Buzdar, A. U., Yap, H-Y. and Blumenschein, G. R. Serial Plasma Carcinoembryonic Antigen Measurements During Treatment of Metastatic Breast Cancer. *JAMA*. 1983;259:1881-1886.

GUIA RAPIDA DEL PROCESAMIENTO DEL ENSAYO

1. Distribuya 50µl de estándares o de suero de prueba y 100µl de conjugado anti-CEA HRP a cada pozo y mezcle completamente por 30 segundos.
2. Incube por 60 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
3. Descarte el contenido de los pozos y lave cinco veces con agua destilada.
4. Añada 100µl de solución de sustrato a cada pozo y sacuda suavemente por 5 segundos.
5. Incube en la oscuridad por 20 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C)
6. Añada 100µl de solución de paro a cada pozo y sacuda suavemente por 30 segundos.
7. Lea las densidades ópticas de forma inmediata (no mas tarde de 10 minutos). Usando un lector de micro placa con filtro de 450 nm.

8081 ISSUE 4 Revised April 2010 SPANISH

©Omega Diagnostics Ltd 2010



OMEGA DIAGNOSTICS LTD.
Omega House, Hillfoots Business Village
Alva FK12 5DQ, Scotland, United Kingdom
odi@omegadiagnostics.co.uk
www.omegadiagnostics.com
ISO 9001:2000 AND ISO 13485 CERTIFIED COMPANY