



ES

EIA CanAg CEA

REF

401-10

IVD

CE

Instrucciones de uso. 2009-11

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	OBJAŠNJENJE 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	SEMNIIFICAȚIA SIMBOLURILOR
RU	ОБОЗНАЧЕНИЯ
SE	SYMBOLFÖRKLARING
SK	VÝZNAM SYMBOLOV
SL	RAZLAGA SIMBOLOV
SR	OBJAŠNJENJE SIMBOLA
TR	SEMBOLLERİN AÇIKLAMALARI



Use By/Годно до/Použitelné do/
Holdbar til/Verwendbar bis/
Ημερομηνία λήξης/Fecha
de caducidad/Kölblik kuni/
Utiliser jusque/Rok valjanosti/
Felhasználható/Utilizzare entro/
Sunautoti iki/Izlietot 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/
Partijas kods/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 grancizne/
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 meditsiineasead/Dispositif médical de diagnostic in vitro/Diagnostički medicinski uređaj In Vitro/In vitro orvosdiagnosztikai 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>/Vsebina 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/Katalogoi 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/
Pročítajte uputstvo za upotrebu/
Kullanım Talimatlarını Bakınız

CONT

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/
Biolooilised 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

ORIG HUM

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

ORIG MOU

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

ORIG BOV

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



Reconstitute with/Разтворяне с/
Rozfeďte pomoci/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/Produsent/
Producent/Fabricante/Producător/
Производитель/Тilverkare/ Výrobca/
Izdelovalec/Proizvođač/Üretici

EIA CanAg CEA

Instrucciones de uso

Kit de ensayo inmunométrico enzimático
Para 96 determinaciones

USO PREVISTO

El kit EIA CanAg CEA está destinado a la determinación cuantitativa del antígeno asociado al cáncer CEA en suero.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL ENSAYO

El antígeno carcinoembrionario (CEA) es una glucoproteína que fue identificada por primera vez en pacientes con carcinoma de colon y en tumores epiteliales de origen endodérmico (tubo digestivo) por Gold y Freedman (1). La molécula de CEA es bastante heterogénea debido al contenido en carbohidratos (50-60%) y por el procedimiento de purificación empleado. Es soluble en ácido perclórico y tiene un peso molecular aproximadamente de 175.000-200.000 Dalton (2). La caracterización inmunológica y genética del CEA ha identificado una familia de moléculas parecidas al CEA que comparten determinantes antigénicos comunes. La molécula afin al CEA más relevante es el NCA (antígeno de reactividad cruzada no específico), sintetizado tanto por tejidos normales como patológicos. Es posible superar el problema de las moléculas afines al CEA y que muestran reactividad cruzada mediante el uso de anticuerpos monoclonales. El EIA CanAg CEA se basa en dos anticuerpos monoclonales de ratón frente a los epítomos de Gold IV y V (3, 4).

El CEA es secretado por las células tumorales y es un marcador serológico muy utilizado de los carcinomas gastrointestinales, el cáncer de pulmón y el cáncer de mama. En el cáncer colorrectal, el uso clínico de las pruebas de CEA para vigilar la respuesta al tratamiento y para documentar la enfermedad progresiva está bien establecido (5, 6). El CEA podría estar también presente en enfermedades inflamatorias gastrointestinales benignas o en enfermedades hepatobiliares. Estas observaciones hacen necesario destacar que el ensayo de CEA no debe usarse como prueba de cribado del cáncer.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El EIA CanAg CEA es un inmunoensayo en fase sólida, no competitivo, basado en la técnica de sándwich directa. Los calibradores, los controles y las muestras del paciente se incuban junto con el anticuerpo monoclonal anti-CEA biotinilado y el anticuerpo monoclonal anti-CEA marcado con peroxidasa de rábano (HRP) en microtiras revestidas con estreptavidina. Después del lavado, se añade reactivo tamponado sustrato/cromógeno (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 CEA 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 CEA de las muestras de los pacientes a partir de la curva de calibración.

REACTIVOS

- Cada kit EIA CanAg CEA 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
------------	----------	---

MICROPLA

Microplaca	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.

Calibradores de CEA	6 viales	2–8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en los viales
----------------------------	----------	---

CAL	CEA	0
-----	-----	---

0 µg/L 1 x 8 mL

CAL	CEA	2
-----	-----	---

2 µg/L 1 x 0,75 mL

CAL	CEA	5
-----	-----	---

5 µg/L 1 x 0,75 mL

CAL	CEA	15
-----	-----	----

15 µg/L 1 x 0,75 mL

CAL	CEA	50
-----	-----	----

50 µg/L 1 x 0,75 mL

CAL	CEA	75
-----	-----	----

75 µg/L 1 x 0,75 mL

CEA humano en una solución salina tamponada con Tris-HCl que contiene albúmina sérica bovina, un colorante amarillo inerte y metilisotiazolona (MIT) al 0,01% como conservante. Listo para su uso.

CAL	CEA	0
-----	-----	---

 debe utilizarse también para la dilución de las muestras..

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

CONTROL	CEA	1
---------	-----	---

1 x 0,75 mL

CONTROL	CEA	2
---------	-----	---

1 x 0,75 mL

CEA humano en una solución salina tamponada con Tris-HCl que contiene albúmina sérica bovina y metilisotiazolona (MIT) al 0,01% como conservante. Listo para su uso.

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

BIOTIN	Anti-CEA
--------	----------

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

Anticuerpo monoclonal anti-CEA de ratón con biotina, aproximadamente 3 µg/mL. Contiene solución salina tamponada con fosfato (pH 7,2), albúmina sérica bovina, inmunoglobulina bovina, agentes bloqueantes, Tween 20, un colorante azul inerte y metilisotiazolona (MIT) al 0,01% como conservante. Para mezclar con marcador, anti-CEA con HRP, antes de su uso.

CONJ	Anti-CEA
------	----------

Marcador, Anti-CEA 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-CEA de ratón con HRP, aproximadamente 60 µg/mL. Contiene conservantes. Para mezclar con biotina anti-CEA antes de su uso.

SUBS	TMB
------	-----

Sustrato TMB de HRP	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

Solución de parada	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.

Componente	Cantidad	Conservación y estabilidad después de la primera apertura
WASHBUF	25X	
Concentrado de lavado	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.
- 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 CEA 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 2 días. 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

El lavador automático de placas debe ser capaz de realizar 1 y 6 ciclos de lavado con un volumen de llenado mínimo de 350 μ L por pocillo y ciclo de lavado.

Se recomienda el lavador manual de tiras Nunc Immuno-8, si no se utiliza una lavadora automática 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 μ L 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 CEA. 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 25 °C) antes de su uso. El ensayo sólo debe realizarse a temperaturas de entre 20 °C y 25 °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

Solución de lavado

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.

Solución de anticuerpo

3 semanas a 2-8 °C

Prepare la cantidad necesaria de solución de anticuerpo mezclando 50 µL de trazador, HRP anti-CEA, con 1 mL de biotina anti-CEA por tira (véase la tabla siguiente y la hoja de protocolo).

Número de tiras**Marcador, HRP Anti-CEA
(µL)****Anti-CEA con biotina
(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 anticuerpo.

Alternativa: Vierta el contenido del marcador, anti-CEA con HRP, en el vial de anti-CEA con biotina y mezcle suavemente. Compruebe que todo el trazador, HRP anti-CEA se transfiere al vial de biotina anti-CEA.

NOTA: La solución de anticuerpo es estable durante 3 semanas a temperatura de 2 °C a 8 °C. No prepare más solución de anticuerpos que la que se usará en este período y compruebe que se conserva adecuadamente.

Procedimiento del ensayo

Realice cada determinación por duplicado para los calibradores, los controles y las muestras de los pacientes. Debe elaborar 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.

Hoja de protocolo

EIA CanAg CEA

REF **401-10**

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

Paso	Frasco/Placa	Procedimiento																																	
1. Prepare la solución de lavado	WASHBUF 25X	Diluya 50 mL de concentrado de lavado con 1.200 mL de agua destilada o desionizada.																																	
Prepare la solución de anticuerpos	CONJ Anti-CEA BIOTIN Anti-CEA	Mezcle 50 µL de marcador, anti-CEA con HRP, con 1 mL de anti-CEA con biotina por tira:																																	
		<table border="1"> <thead> <tr> <th>Número de tiras</th> <th>Marcador, anti-CEA con HRP (µL)</th> <th>Anti-CEA con biotina (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> </tbody> </table>	Número de tiras	Marcador, anti-CEA con HRP (µL)	Anti-CEA con biotina (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
Número de tiras	Marcador, anti-CEA con HRP (µL)	Anti-CEA con biotina (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																																	

1. Para empezar, prepare la solución de lavado y la solución de trabajo del 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 de CEA (CAL 0, 2, 5, 15, 50, 75), los controles (c) y las muestras de los pacientes (desconocidos o "desc.") en los pocillos de tiras de acuerdo con el esquema siguiente:

	1	2	3	4	5	6	7 etc.
A	Cal 0	Cal 50	Desc. 1				
B	Cal 0	Cal 50	Desc. 1				
C	Cal 2	Cal 75	Desc. 2				
D	Cal 2	Cal 75	Desc. 2				
E	Cal 5	C1	etc.				
F	Cal 5	C1					
G	Cal 15	C2					
H	Cal 15	C2					

4. Añada 100 μL de solución de anticuerpo 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 1 hora (± 5 min) a temperatura ambiente (20 $^{\circ}\text{C}$ a 25 $^{\circ}\text{C}$), con agitación constante de la placa usando un agitador de microplacas.
6. Lave cada tira 6 veces, usando el procedimiento de lavado descrito en las Notas del procedimiento, punto 4.
7. Añada 100 μL 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.
8. Incube durante 30 min (± 5 min) a temperatura ambiente, agitando constantemente. Evite la luz directa del sol.
9. 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. 9. Añada 100 µl 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 kit EIA CanAg CEA mide concentraciones de entre 0,25 µg/L y 75 µg/L. Si se esperan concentraciones de CEA por encima del rango de medición, se recomienda diluir las muestras con calibrador 0 de CEA antes del análisis.

Control de calidad

Los controles 1 y 2 de CEA 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. Se recomienda que cada laboratorio prepare también sus propios grupos de suero con diferentes niveles, que pueden utilizarse como controles internos para garantizar la exactitud del ensayo.

Material de referencia

Puede emplearse como estándar de referencia la 1st International Reference Preparation 73/601. Los valores para los calibradores y controles de CEA se asignaron frente a un conjunto de patrones de referencias internos cuyos valores son rastreables hasta el IS 73/601 usando el factor de conversión 13,5, esto es, 1 µg/L corresponde a 13,5 UI/L.

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 CEA.

Para el cálculo automático de los resultados de CEA, 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 µg/L.
- 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 µg/L.
- Método de ajuste de la curva cuadrática. El calibrador 0 debe estar incluido en la curva con el valor 0 µg/L.

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 CEA frente a la concentración de CEA correspondiente (en $\mu\text{g/L}$) (véase la figura más abajo). Las concentraciones de CEA 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 CEA mayores de $75 \mu\text{g/L}$, deben diluirse las muestras 1/10 y 1/100 con calibrador 0 de CEA y reanalizarse para obtener la concentración exacta de CEA.

Dilución a 1: 10 = 50 μL de muestra + 450 μL de CEA 0 $\mu\text{g/L}$

Dilución a 1: 100 = 50 μL de dilución 1:10 + 450 μL de CEA 0 $\mu\text{g/L}$

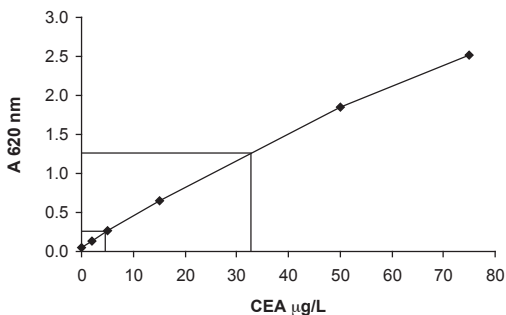
Luego se obtiene la concentración de CEA de la muestra no diluida, como sigue:

Dilución a 1/10: 10 x valor medido

Dilución a 1/100: 100 x valor medido

Ejemplo de resultados

Muestra			Valores del calibrador	Valor de la abs. media (A)	CEA ($\mu\text{g/L}$)
CAL	CEA	0	0 $\mu\text{g/L}$	0,050	
CAL	CEA	2	2 $\mu\text{g/L}$	0,131	
CAL	CEA	5	5 $\mu\text{g/L}$	0,259	
CAL	CEA	15	15 $\mu\text{g/L}$	0,657	
CAL	CEA	50	50 $\mu\text{g/L}$	1,857	
CAL	CEA	75	75 $\mu\text{g/L}$	2,519	
Muestra A				0,220	4,1
Muestra B				1,290	32,3



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

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El nivel de CEA no puede usarse como prueba absoluta de la presencia o ausencia de enfermedad maligna, y no debe utilizarse la prueba de CEA 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 CEA 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 midió el CanAg CEA en 95 donantes de sangre sanos y en 117 personas sanas entre 60 y 64 años. 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:

	Media (µg/L)	DE (µg/L)	Mediana (µg/L)	Rango (µg/L)	Límite superior de referencia (fracción del 95% central)
Donantes de sangre sanos n=95	1,3	1,0	1,0	0,5–9,1	3,2 µg/L
Personas sanas edad 60-64, n=117	2,4	1,7	1,9	0,5–8,8	7,4 µg/L

El 96% de los sujetos sanos presentaron valores del análisis por debajo de 5 µg/L.

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. El tabaquismo puede aumentar los niveles de CEA en personas sanas.

Precisión

La precisión intermedia se calculó según la directriz EP5-A (7) del NCCLS usando cuatro niveles de suero humano agrupado congelado que contenía CEA añadido y dos combinaciones de reactivos diferentes del kit EIA CanAg CEA. Cada muestra se pipeteó aleatoriamente (n = 2/análisis) y se analizó dos veces cada día durante 20 días.

Muestra	Duplicados	Media (U/mL)	DE intraensayo (U/mL)	CV intraensayo, %	DE interdías (U/mL)	CV interdías, %
CEA 1	80	2,78	0,07	2,5	0,08	2,7
CEA 2	80	5,97	0,15	2,6	0,11	1,8
CEA 3	80	20,8	0,44	2,1	0,36	1,7
CEA 4	80	57,3	1,57	2,7	0,87	1,5

Límite de detección

El límite de detección del kit EIA CanAg CEA es $\leq 0,25$ µg/L, definido como la concentración correspondiente a la media de los valores de absorbancia del calibrador 0 de CEA más 2 desviaciones estándar, según la fórmula:

$$\frac{2 \times \text{DE CAL 0}}{\text{DO CAL 2} - \text{DO CAL 0}} \times 2 \mu\text{g/L}$$

Recuperación

Se prepararon muestras de suero enriquecidas añadiendo antígeno CEA humano a muestras de suero normales. La recuperación del antígeno añadido estuvo en el rango del 90% al 115%.

Efecto de gancho

Al leer la absorbancia a 405 nm, esto es, usando el procedimiento de ensayo opcional con la adición de solución de parada, no se ha observado efecto de gancho en muestras que contenían hasta 250 000 µg/L. Cuando se lee la absorbancia a 620 nm, las muestras extremadamente altas pueden cambiar el color del sustrato de azul a verdoso. Esto puede conducir a una absorbancia falsamente baja, que puede caer dentro del rango de la curva de calibración y apreciarse como un gancho. Se ha observado dicho efecto de gancho a 620 nm en muestras que contenían más de 2000 µg/L.

Para evitar notificar resultados engañosamente bajos debido al efecto de gancho evidente cuando se lee la absorbancia a 620 nm, se recomienda usar el procedimiento de ensayo opcional y determinar la absorbancia a 405 nm en los pacientes analizados por primera vez o en los pacientes en los que podrían esperarse valores de CEA muy elevados.

Linealidad

Las muestras de los pacientes se diluyeron seriadamente con calibrador 0 de CEA y se analizaron. Los valores obtenidos estuvieron dentro del 90% al -120 % de los valores esperados.

Especificidad

El EIA CanAg CEA se basa en dos anticuerpos monoclonales de ratón, el MAb capturador 12-140-10 frente al epitopo IV de Gold y el MAb detector 12-140-1 frente al epitopo de Gold V (4, 5). Se siguió la directriz EP7-P (8) del NCCLS para determinar posibles fuentes de interferencia. Se estudiaron las siguientes sustancias y concentraciones y se observó que no interfieren con la prueba.

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

Comparación de métodos

Se ha comparado el EIA CanAg CEA con el kit Wallac Delfia CEA. Se midieron 77 muestras de suero humano con valores que oscilaron entre 0 y 790 µg/L y los análisis de regresión lineal de los resultados dieron:

$$\text{CanAg CEA} = 0,90 \times \text{Delfia CEA} + 0,53 \quad r = 1,00$$

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. Gold P. and Freedman S. O. (1965) Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system. *J. Exp Med* 122: 467–481.
2. Thompson J.A. and Zimmerman W. (1988) The carcinoembryonic antigen gene family: Structure, expression and evolution. *Tumor Biol*; 9: 63–83.
3. Börner, O.P. (1992) Thesis "Immunoassays for Carcinoembryonic antigen, Specificity and Interferences", ISBN 82–7633–014–2.
4. Hammarström S. et al. (1989) Antigenic sites in carcinoembryonic antigen. *Cancer Res* 49: 4852–4858.
5. Tumor Marker Expert Panel, ASCO (1996) Clinical practice guidelines for the use of tumor markers in breast and colorectal cancer. *J. Clin Oncol*; 14: 2843–2877.
6. Fleisher M. et al. (2002) Practice guidelines and recommendations for use of tumor markers in the clinic. *National Academy of Clinical Biochemistry* 15: 26-29.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. Approved Guideline EP5-A (1999).
8. 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 Lindälv's 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

