



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

INFORME DE INVESTIGACIÓN SOBRE:

**“DETERMINACIÓN DEL BIOMARCADOR ENZIMA PIRUVATO
QUINASA (M2PK) EN HECES Y EL ANTÍGENO CARCINO
EMBRIONARIO EN PACIENTES QUE PRESENTAN SINDROME DE
INTESTINO IRRITABLE PARA CÁNCER COLORRECTAL”**

Requisito previo para optar por el Título de Licenciada en Laboratorio Clínico

Autora : Pérez Llerena, Glenda Maribel
Tutora : Dra. Mg. Tamayo Maldonado, María Augusta.

Ambato-Ecuador
Marzo, 2018

APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutora del Trabajo de Investigación sobre el tema:

“DETERMINACIÓN DEL BIOMARCADOR ENZIMA PIRUVATO QUINASA (M2PK) EN HECES Y EL ANTÍGENO CARCINO EMBRIONARIO EN PACIENTES QUE PRESENTAN SINDROME DE INTESTINO IRRITABLE PARA CÁNCER COLORRECTAL.” de Glenda Maribel Pérez Llerena estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico, considero que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la evaluación del jurado examinador designado por el H. Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Ambato, Octubre del 2017

LA TUTORA

.....
Dra. Mg. Tamayo Maldonado María Augusta.

AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO

Los criterios emitidos en el Informe de Investigación “**DETERMINACIÓN DEL BIOMARCADOR ENZIMA PIRUVATO QUINASA (M2PK) EN HECES Y EL ANTÍGENO CARCINO EMBRIONARIO EN PACIENTES QUE PRESENTAN SÍNDROME DE INTESTINO IRRITABLE PARA CÁNCER COLORRECTAL.**” como también los contenidos, ideas, análisis y conclusiones son de mi exclusiva responsabilidad, como autora de este trabajo de grado.

Ambato, Octubre del 2017

LA AUTORA

.....
Pérez Llerena Glenda Maribel

DERECHOS DE AUTORA

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de esta Tesis o parte de ella un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi tesis con fines de difusión pública; además apruebo la reproducción de esta tesis, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autora.

Ambato, Octubre del 2017

LA AUTORA

.....

Pérez Llerena Glenda Maribel

APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR

Los miembros del Tribunal Examinador aprueban el Informe de Investigación sobre el tema Investigación “**DETERMINACIÓN DEL BIOMARCADOR ENZIMA PIRUVATO QUINASA (M2PK) EN HECES EN RELACION CON EL ANTÍGENO CARCINO EMBRIONARIO EN PACIENTES QUE PRESENTAN SINDROME DE INTESTINO IRRITABLE COMO BIOMARCADORES DEL CÁNCER COLORRECTAL**” de Glenda Maribel Pérez Llerena, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico

Ambato, Marzo del 2018

Para constancia firman

.....
PRESIDENTE/A

.....
1ER VOCAL

.....
2DO VOCAL

DEDICATORIA

“Nadie logra el éxito sin la ayuda de los demás. El sabio y el confiado reconocen esta ayuda con gratitud”

Dedico este trabajo de investigación con todo mi amor a Dios principalmente quien me inspiro para la realización de este estudio, por darme salud y bendiciones todos los días para alcanzar mis metas como persona y como Profesional y viviré confiada ante Dios.

A mis Padres, Hermanos, Hijo y Esposo, quienes son mi inspiración y a quienes les debo toda la comprensión y un agradecimiento infinito por compartir esos maravillosos momentos de mi carrera a mis hermanos quienes también han sido una guía de ejemplo para mi hijo demostrando un esfuerzo constante, esperando que comprendan que el logro mío es de ustedes.

Glenda Maribel.

AGRADECIMIENTO

Agradezco principalmente a mi Madre y a mi Hijo quienes han sido mi inspiración y mi fortaleza para sacar adelante esta investigación.

A todas aquellas personas que hicieron posible la culminación de este proyecto de investigación y que apoyaron sin condiciones mi carrera, a mi tutora Dra. Mg María Augusta Tamayo que con su paciencia ha guiado sabiamente el desarrollo del presente documento y por su intermedio a la Universidad Técnica de Ambato, autoridades y docentes.

Glenda Maribel

ÍNDICE GENERAL

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO.....	iii
DERECHOS DE AUTORA.....	iv
APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO	vii
Índice general	viii
Índice de tablas	x
Índice de gráficos.....	xi
Resumen	xii
Summary	xiii
CAPÍTULO I	
INTRODUCCIÓN.....	1
EL PROBLEMA.....	2
1.1. Tema.....	2
1.2.1 Contexto	2
1.2.2 Formulación del problema.....	5
1.3. Justificación	6
1.4. Objetivos.....	8
1.4.1. Objetivo general.....	8
1.4.2. Objetivos específicos.....	8
CAPÍTULO II	
MARCO TEÓRICO.....	9
2.1 Estado del Arte.....	9
2.2 Fundamento Teórico	11
2.3 Hipótesis	29
CAPÍTULO III	
MARCO METODOLÓGICO	30
3.1 Nivel y Tipo de investigación.....	30
3.2 Selección del área o ámbito de estudio	30

3.3 Población	31
3.4 Operacionalización de las variables	32
3.5 Descripción de la intervención y procedimientos para la recolección de información	34
3.6 Aspectos éticos	34
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44

Índice de tablas

Tabla No 01: Variable independiente: Biomarcador Enzima Piruvato Quinaza, Antígeno Carcino Embrionario CEA.....	32
Tabla N°02. Variable dependiente: Síndrome de Intestino Irritable y otros problemas gastrointestinales.....	33
Tabla N°03. Tabla totalizada de resultados de la aplicación de las pruebas	45
Tabla N°04. Patologías diagnosticadas	46
Tabla N°05. Prueba M2PK.....	47
Tabla N°06. Prueba CEA	48
Tabla N°07. Tabla de Muestras única CEA	51
Tabla No. 08. Pregunta 01.....	52
Tabla No. 09. Pregunta 02.....	53
Tabla No. 10. Pregunta 03.....	54
Tabla No. 11. Pregunta 04.....	55
Tabla No. 12. Pregunta 05.....	56
Tabla No. 13. Pregunta 06.....	57
Tabla No. 14. Pregunta 07.....	58
Tabla No. 15. Pregunta 08.....	59
Tabla No. 16. Pregunta 09.....	60
Tabla No. 17. Pregunta 10.....	61

Índice de gráficos

Gráfico No. 01. Estadística por diagnóstico.....	46
Gráfico No. 02. Incidencia del cáncer colorrectal prueba M2PK.....	47
Gráfico No. 03. Incidencia de cáncer colorrectal prueba CEA	52
Gráfico No. 04. Pregunta 01.....	53
Gráfico No. 05 Pregunta 02.....	54
Gráfico No. 06. Pregunta 03.....	55
Gráfico No. 07. Pregunta 04.....	56
Gráfico No. 08. Pregunta 05.....	57
Gráfico No. 09. Pregunta 06.....	58
Gráfico No. 10. Pregunta 07.....	59
Gráfico No. 11. Pregunta 08.....	60
Gráfico No.12. Pregunta 19.....	61
Gráfico No.13. Pregunta 10.....	62

Índice de anexos

Anexo1 Encuesta aplicada	68
Anexo 2	69
Consentimiento informado para participar en un estudio de investigación	69
Anexo3 Inserto M2PK	70
Anexo 4 Inserto CEA.....	74
Anexo 5 Fotografías.....	78
Anexo 6	83
Estadística de la aplicación de la pruebas de laboratorio	83
Anexo 7	87
Autorización para realizar el Proyecto de Investigación, Hospital Básico Pelileo. ...	87
Anexo 8	88
Certificado de realización de la parte práctica del tema de investigación, Laboratorio Clínico Bacteriológico MED-LAB, Pelileo.	88

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

“DETERMINACIÓN DEL BIOMARCADOR ENZIMA PIRUVATO QUINASA (M2PK) EN HECES Y EL ANTÍGENO CARCINO EMBRIONARIO EN PACIENTES QUE PRESENTAN SÍNDROME DE INTESTINO IRRITABLE PARA CÁNCER COLORRECTAL”

Autora: Pérez Llerena Glenda Maribel

Tutora: Dra. Mg. Tamayo Maldonado María Augusta.

Fecha: Octubre del 2017

RESUMEN

En los últimos tiempos el gran avance científico y tecnológico se ha dirigido al estudio del tratamiento y posible cura de las enfermedades que aquejan a la humanidad, una de ellas y de manera alarmante es el cáncer en todas sus manifestaciones que a más de causar la muerte genera gastos de gran magnitud en el tratamiento, uno de los tipos de cáncer que más incidencia se nota en la población es el cáncer colorrectal y que se manifiesta generalmente por problemas gastrointestinales.

Por tanto el objetivo del presente estudio implica el determinar los niveles de la Enzima Piruvato Quinasa (M2PK) en heces y el Antígeno Carcino Embrionario en sangre como biomarcadores para diagnóstico temprano del Cáncer Colorrectal en pacientes que presentan sintomatologías gastrointestinales especialmente en el caso del Síndrome de Intestino Irritable, por ello es indispensable especificar la prevalencia de Cáncer Colorrectal mediante el análisis del Biomarcador M2PK, prueba que no ha sido aplicada aun en nuestro medio y el CEA Antígeno Carcinoembrionario con ello se pretende realizar la comparativa y eficiencia entre ambos y analizar los resultados obtenidos en las pruebas, mediante ello se pretende diagnosticar el Cáncer Colorrectal desde su etapa inicial para su posterior tratamiento, con ello también se podrá establecer los Factores de Riesgo que nos permitan prevenir la morbimortalidad por Cáncer Colorrectal mediante la selección de la población de estudio de acuerdo a variables clínico epidemiológicos y sociodemográficas.

PALABRAS CLAVE: DIAGNÓSTICO, BIOMARCADOR, CÁNCER COLORRECTAL, SÍNDROME INTESTINO IRRITABLE

TECHNICAL UNIVERSITY OF AMBATO
FACULTY OF HEALTH SCIENCES
CAREER OF CLINICAL LABORATORY

“ DETERMINATION OF THE ENZYMA PIRUVATO QUINASA BIOMARCER (M2PK) IN FECES AND THE CARCINARY ANTIGEN EMBRYOUS IN PATIENTS WHO PRESENT IRRITABLE INTESTINE SYNDROME FOR COLORCECTAL CANCER”

Author: Pérez Llerena Glenda Maribel

Tutor: Dra. Mg. Tamayo Maldonado María Augusta.

Date: October 2017

SUMMARY

In the last times the scientific and technological breakthrough has been directed to the study of the treatment and possible cure of the diseases that afflict humanity, one of them and alarmingly is cancer in all its manifestations that more than cause death It generates large-scale expenses in treatment, one of the types of cancer that is most noticeable in the population is colorectal cancer and is usually manifested by gastrointestinal problems.

Therefore, the objective of the present study is to determine the levels of the enzyme Piruvato Kinase (M2PK) in feces and the Embryonic Carcinogen Antigen in blood as biomarkers for early diagnosis of Colorectal Cancer in patients presenting gastrointestinal symptoms, especially in the case of Syndrome Irritable Bowel, it is therefore essential to specify the prevalence of Colorectal Cancer through the analysis of the M2PK Biomarker, a test that has not yet been applied in our environment and the CEA Carcinoembryonic Antigen, with which we intend to make comparisons and efficiency between them and analyze the results obtained in the tests, through this is intended to diagnose Colorectal Cancer from its initial stage for further treatment, this will also establish the risk factors that allow us to prevent morbidity and mortality due to colorectal cancer through the selection of the study population. gave according to clinical epidemiological and sociodemographic variables.

KEYWORDS: DIAGNOSIS, BIOMARKER, COLORECTAL CANCER, IRRITABLE BOWEL SYNDROME.

INTRODUCCIÓN

El Cáncer de Colon en la actualidad es el tercero más frecuente en hombres y el segundo en mujeres, por lo tanto es importante prestarle atención para su prevención y tratamiento, esta patología poco a poco ha ido ganando terreno dentro de los problemas de salud a nivel mundial. Su desarrollo se debe en buena parte a hábitos nocivos como fumar, tomar licor o comer demasiada grasa.

A más de este problema, el Síndrome de Intestino Irritable o SII, se define como uno de los problemas más comunes del sistema digestivo, se estima que de cada 10 personas de cualquier edad al menos una persona padece esta enfermedad, el Ministerio de Salud Ecuador, lo considera como una enfermedad silenciosa que afecta al colon y a los niveles superiores del tracto gastrointestinal.(1)

Bajo estos criterios, el presente estudio implica la utilización de nuevos métodos o pruebas de laboratorio con un marcador de alta sensibilidad y especificidad, cuya detección en sangre y/o materia fecal sea indicativo de la presencia del cáncer y/o de sus precursores en etapa temprana y curable, denominado M2PK Piruvato Quinasa, la prueba es sencilla y solo requiere de la toma de una muestra de materia fecal sin dieta previa, cuyo resultado es cuantitativo indicando el nivel de riesgo y a la vez ponerla en comparación y con el método utilizado con mayor frecuencia como es el caso del CEA o Antígeno Carcino Embrionario.

La toma de muestras se la realizó siguiendo el protocolo establecido para el caso en 40 pacientes atendidos durante el período abril-septiembre de 2017 en el Hospital Básico Pelileo, los datos se obtuvieron a través del Departamento de Epidemiología, en el presente documento además se define todo el proceso realizado y se hace un énfasis teórico e investigativo, se analizan y los resultados siguiendo métodos estadísticos para determinar la validez de la información recolectada con el fin de emitir un informe final certero y basado en una verdad científica.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

1.1. Tema

DETERMINACIÓN DEL BIOMARCADOR ENZIMA PIRUVATO QUINASA (M2PK) EN HECES Y EL ANTÍGENO CARCINO EMBRIONARIO EN PACIENTES QUE PRESENTAN SÍNDROME DE INTESTINO IRRITABLE PARA CÁNCER COLORRECTAL.

1.2. Planteamiento del problema

1.2.1 Contexto

El cáncer colorrectal es el cuarto cáncer más frecuente que se diagnostica en todos los adultos cada año en los Estados Unidos. Por separado, es el tercer cáncer más frecuente en hombres y el tercer cáncer más frecuente en mujeres, para el año 2016 se estima que a 134,490 adultos en los Estados Unidos se les diagnosticará cáncer colorrectal. Estas cifras incluyen 95,270 nuevos casos de cáncer de colon y 39,220 nuevos casos de cáncer de recto, se atribuyen 49,190 muertes (26,020 hombres y 23,170 mujeres) al cáncer de colon o recto este año. El cáncer colorrectal es la segunda causa principal de muerte por cáncer en los Estados Unidos (1).

Según BUPASALUD (2016), El Síndrome de Intestino Irritable o SII, es uno de los problemas más comunes del sistema digestivo, aproximadamente 1 de cada 10 personas a nivel mundial padecen de Síndrome de Intestino Irritable y es casi el doble más común en la mujer que en el hombre, el Síndrome de Intestino Irritable se puede desarrollar a cualquier edad, pero la mayoría de las personas tienen sus primeros síntomas entre los 20 y 35 años de edad.

Los criterios de Roma, sirven para clasificar esas enfermedades funcionales digestivas que aparecen cuando después de un estudio del paciente no se encuentra un factor orgánico, farmacológico, metabólico y la etiología que explique la causa de

esa sintomatología digestiva, de esta manera en Roma I se divide a la patología digestiva funcional en 6 grandes secciones:

- a) Esofágico
- b) Gastroduodenales
- c) Intestinales
- d) Doloroso abdominal
- e) Vesícula biliar y Esfínter de Oddi
- f) Anorrectal

En 1997, se entrega el documento de Roma II, en un esfuerzo de ordenar y aclarar el panorama. La gran novedad es la inclusión de desórdenes funcionales digestivos en pediatría.

g) Neonatos y lactantes

h) Niños y adolescentes

Roma III, al igual como sus predecesoras Roma I y Roma II, representan un espectro de 6 grupos de patología, con 20 cuadros clínicos diferentes en adultos; y Roma III separa la patología pediátrica a su vez, en neonatos y lactantes en un grupo; y niños y adolescentes en un segundo grupo.

La prevalencia del Síndrome de Intestino Irritable en Europa y América del Norte está estimada en 10–15%. En Suecia, la cifra más comúnmente citada es 13.5%. La prevalencia del Síndrome de Intestino Irritable está aumentando en países de la región Asia–Pacífico, particularmente en las economías en desarrollo. Las estimaciones de la prevalencia varían ampliamente en la región de Asia–Pacífico. Los estudios de la India mostraron que los criterios de Roma I para Síndrome de Intestino Irritable identificaban más pacientes que los criterios de Roma II. Las tasas de prevalencia comunicadas incluyeron 0.82% en Beijing, 5.7% en el sur de China, 6.6% en Hong Kong, 8.6% en Singapur, 14% en Pakistán, y 22.1% en Taiwán. Un estudio en China halló que la prevalencia del Síndrome de Intestino Irritable,

definida según los criterios de Roma III, en individuos que asistían a policlínicas ambulatorias fue 15.9%.

En el Ecuador, el cáncer es la segunda causa de muerte a nivel nacional, quince de cada cien muertes en el país se producen a causa del cáncer, en cuanto a la incidencia, nos encontramos a nivel medio en la escala mundial y regional, según GLOBOCAN 2012, un proyecto de la Organización Mundial de la Salud, se estimó que, para el año 2016, en Ecuador la incidencia de cáncer en hombres fue de 162 por 100.000 habitantes, por encima de países como Perú (140,9) o Venezuela (146,9), pero por debajo de Brasil (231,6) o Cuba (250,8), (2-3).

En el caso del síndrome del intestino irritable el Ministerio de Salud (2016), lo considera como una enfermedad silenciosa que afecta al colon y a los niveles superiores del tracto gastrointestinal.

La incidencia de este mal es elevada pues se estima que entre un 30 y un 45 por ciento de los pacientes que se atienden en las consultas ambulatorias de gastroenterología padecen los síntomas iniciales de esta enfermedad, especialmente durante la segunda y tercera década de vida de las personas.

Según Cabezas P. (2016), se tomó una muestra constituida por los 331 pacientes atendidos en el Hospital San Francisco de Quito, durante el período enero agosto de 2015, los datos se obtuvieron a través del Departamento de Epidemiología donde se observaron todos los registros de consulta externa y se eligieron los registros donde el facultativo marcó en el casillero de diagnóstico definitivo con síndrome de intestino irritable, de estos los 189 pacientes (muestra seleccionada, presentan diferencias en cuanto a niveles de estrés, conflictos familiares o laborales, problemas económicos, dificultades personales, cambios de hábitos, entre otros.

En la Provincia de Tungurahua, según informes del área de estadística SOLCA, 2016, durante el primer semestre (enero-junio) se han atendido 12.774 consultas; de las cuales el 80 % pertenece a las mujeres y el 20 % a los hombres que acuden al hospital con patologías derivadas del cáncer de cualquier tipo, (4), se determina que a nivel local existe una alta incidencia de cáncer de estómago y de próstata en los hombres; y en las mujeres el cáncer de cuello uterino y el de mama (seno) son los más comunes, en ambos casos existe 30% de probabilidad de cáncer colorectal, se establece que el costo del tratamiento de los pacientes es muy alto, por lo que la gente debe priorizar la prevención mediante un diagnóstico temprano de cáncer en el hospital.

En la ciudad de Ambato no se puede determinar estadísticas relacionadas al tema de, sin embargo con datos globales e informes globales de pacientes que han acudido a solicitar exámenes gastrointestinales al menos un 25% de ellos han presentado Síndrome de Intestino Irritable y otro tanto relacionados a problemas colorectales.

Mediante este análisis se puede establecer que la gran incidencia de cualquier tipo de cáncer tanto en hombres como mujeres se determina por el estilo de vida alimentación o exposición a múltiples factores etc., una prevención oportuna es muy importante mediante la realización de exámenes que se encuentren al alcance con equipo actualizado y reactivos que mantengan una eficacia del 100% en el diagnóstico para que los especialistas puedan determinar el futuro tratamiento.

1.2.2 Formulación del problema

Para un especialista y su paciente, los exámenes de detección oportuna de algún tipo de cáncer antes de que la persona presente algún síntoma sería lo más óptimo, esto puede ayudar a encontrar el cáncer en un estadio inicial. Cuando el tejido anormal o

el cáncer es detectado a tiempo, puede ser más fácil tratarlos. Cuando aparecen los síntomas, el cáncer pudo haber empezado a hacer metástasis.

Cuando el resultado de un examen de detección es anormal, necesariamente el paciente debe someterse a más pruebas para determinar el cáncer de manera localizada, a estos se los llama pruebas de diagnóstico.

En el caso del cáncer colorectal, el M2-Piruvato Quinasa fecal (M2-PK) se presenta como un nuevo Biomarcador útil para diagnosticar la enfermedad inflamatoria intestinal. La prueba detecta una enzima, llamada Tumor M2-PK, que es un subproducto del incremento del tumor, los escapes de la enzima del tejido cancerígeno en el intestino y se puede encontrar en las heces.

En el presente proyecto de investigación se pretende utilizar la M2-PK como un método cualitativo inmunocromatográfico fecal-tumoral. Esta prueba se realiza menor tiempo que otras pruebas y el costo también es inferior, la principal ventaja de la M2-PK es que se realiza rápidamente con muestras de heces, la sensibilidad de la M2-PK es superior a la de la prueba de Sangre Oculta que es un indicador fecal tumoral.

1.3. Justificación

Esta investigación se lleva a cabo ante la necesidad de obtener un diagnóstico más preciso mediante el análisis con el Biomarcador M2PK (Enzima Piruvato Quinasa) ya que tiene un 91% de sensibilidad y 92% especificidad mediante el método de Inmunoensayo Cromatográfico evitando así los falsos positivos que se diagnostican al realizar otra prueba como es en el caso de la sangre oculta 21% de sensibilidad y

100% especificidad en materia fecal en cáncer intestinal. Además, se comprobará con la determinación cuantitativa del Antígeno Carcino Embrionario que es el marcador inespecífico pero que direcciona al diagnóstico del Cáncer Colorrectal en sangre.

Esta prueba es un indicativo en la detección precoz de cáncer o de sus precursores en etapa temprana es fácil de realizar, de interpretar permite evaluar con sentido real.

Al no existir publicaciones de investigaciones recientes sobre este importante tema en nuestro medio, este trabajo de investigación cobra valor teórico-práctico, de gran trascendencia en el ámbito de la salud.

Es novedoso por que la investigación del cáncer se enfrenta a cambios radicales mediante los diversos estudios realizados en las células cancerosas que utilizan la energía rica derivada del metabolismo del azúcar ya que una producción de energía alterada en el metabolismo es una característica del cáncer. La enzima clave es la 'M2-PK' (PKM2) que ayuda al diagnóstico del cáncer colorectal.

Esta investigación es factible realizarla porque se cuenta con el apoyo de laboratorios clínicos Bacteriológico MED-LAB que acoge a los pacientes por motivo de estudio y la finalidad la realización de las pruebas de manera rápida y eficiente generando una interpretación y diagnóstico clínico que sirve como referencia para su respectivo tratamiento terapéutico por parte de los especialistas.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Determinar los niveles de la Enzima Piruvato Quinasa (M2PK) en heces y el Antígeno Carcino Embrionario como biomarcadores de cáncer colorrectal en pacientes que presentan sintomatologías gastrointestinales como el Síndrome de Intestino Irritable

1.4.2. Objetivos específicos

- Determinar la presencia de la Enzima M2PK mediante el método de Inmunoensayo Cromatográfico en pacientes que presentan sintomatología gastrointestinal y el síndrome de intestino irritable.
- Cuantificar los niveles del Antígeno Carcino embrionario CEA mediante el método de ensayo ECLIA (electroquimioluminiscencia) en pacientes que presentan sintomatología gastrointestinal y el síndrome de intestino irritable
- Relacionar los valores obtenidos en las pruebas M2PK y el CEA con el fin de determinar la posible presencia de cáncer colorectal.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Estado del Arte

Se realizó una búsqueda bibliográfica desde 2000 a 2016 utilizando PubMed, Embase, como buscador de publicaciones, utilizando piruvato quinasa M2PK y el cáncer colorectal, síndrome de intestino irritable y biomarcadores como palabras clave. Un total de 148 publicaciones fueron detectadas a nivel mundial. Sin embargo se consideró como referencia tres publicaciones a nivel mundial, nacional y local.

Según la Sociedad Andaluza de Patología Digestiva (2013) en su artículo denominado “M2-Piruvato Quinasa fecal (M2-PK) considera que es un nuevo biomarcador útil para diagnosticar la enfermedad inflamatoria intestinal”, determina en sus conclusiones que:(5)

- Se realizó un estudio de validación de prueba diagnóstica de 58 pacientes con enfermedad de Crohn (EC) determinándose SES-CD, CDAI, M2-PK, Calprotectina, PCR y VSG. Calculamos correlación y curvas ROC de los biomarcadores estimando la sensibilidad y especificidad óptima para establecer actividad clínica y endoscópica.
- M2-PK fecal es un biomarcador válido y con alta precisión para predecir actividad endoscópica en la enfermedad de Crohn siendo superiores a PCR y VSG. M2-PK fecal es válido para definir actividad clínica pero menos precisa que calprotectina fecal, PCR y VSG. Calprotectina fecal presenta mayor precisión diagnóstica que M2-PK, PCR y VSG para predecir actividad clínica y endoscópica en la enfermedad de Crohn.

En el artículo denominado “Detectar a tiempo el cáncer de colon” publicado por el diario el Universo (2017), se determina que: (6)

- Uno de los tipos de cáncer más comunes a nivel mundial y fácil de detectar, según la Organización Mundial de la Salud, es el desarrollado en el colon. Esta organización agrega que las tasas de curación son elevadas si su detección es temprana.

- El examen de sangre oculta en heces, agrega, es la primera prueba que se debe realizar a los 35 años. Si se detecta sangre en las heces habría que realizar una colonoscopia. Si desde los 35 a los 40 años no se ha detectado nada, se espera hasta los 50 años para proceder a la colonoscopia.
- Según las últimas cifras oficiales en el sitio web de la Sociedad de Lucha contra el Cáncer (Solca), aproximadamente se dan 1.200 nuevos casos de cáncer de colon cada año en Ecuador. El 52% de personas sobreviven.

VALENCIA G. en su tesis de grado denominada “Comportamiento del cáncer colorrectal en el Hospital Regional Docente y el Hospital del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social del Cantón Ambato, periodo 2014-2015” , establece que:(7)

- Se pudo observar la incidencia del cáncer colorectal en la población que fue atendida en el Hospital Regional Docente Ambato y en el Hospital del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social que fue de 10.2% en el año 2014 y para el 2015 fue de 5.13%.
- Se identificó que, en relación al género, es mayor en el sexo femenino con un 53%, que en el masculino con un 47% no es muy grande su diferencia.
- Los grupos etarios más representativos del estudio fueron los de 66 a 70 años, pero su mayor número de casos reportados se incrementa desde los 40 años de edad.
- La principal sintomatología que presentaron los pacientes Cáncer Colorectal fue el dolor abdominal, sangrado digestivo bajo y alteración en el ritmo intestinal predominando la constipación.
- El principal factor de riesgo identificado en los pacientes con Cáncer Colorectal fue la falta de actividad física, antecedentes de pólipos y aumento Índice de Masa Corporal con sobrepeso y obesidad, seguida por antecedentes de cáncer en la familia, el consumo de alcohol y tabaco.
- Según las colonoscopias que se realizaron los pacientes con Cáncer Colorectal (CCR), la ubicación más frecuente fue en el recto con 29.4%.

- El tipo histológico más frecuente que se encontró en los pacientes con Cáncer Colorectal fue el Adenocarcinoma moderadamente diferenciado con 21.56%, seguido por adenocarcinoma bien diferenciado con 19,60%.

2.2 Fundamento Teórico

2.2.1 Síndrome de intestino irritable

Mearin F (2011), considera que el SII (Síndrome de Intestino Irritable) es caracterizado por la presencia de dolor o molestia abdominal asociado a cambios en la frecuencia y/o consistencia de las deposiciones. INTESTINO DELGADO Y COLON, se asume que el paciente con un Síndrome de Intestino Irritable no presenta ninguna alteración bioquímica o estructural que pueda justificar la naturaleza de los síntomas.

A lo largo del tiempo, se han propuesto diversos criterios que permitiesen establecer un diagnóstico positivo basado en la presencia de síntomas, evitando con ello pruebas superfluas. El hecho de que algunos de estos síntomas sean compartidos por numerosas dolencias orgánicas, explica la dificultad para establecer un consenso a la hora de establecer qué síntoma o combinación de síntomas gozan de un mayor valor predictivo positivo, sensibilidad y especificidad para el diagnóstico. (8)

Otero W. (2005) en su análisis relacionado al SII desarrollada para la Revista Colombiana de Gastroenterología determina que el síndrome de intestino irritable (SII), es uno de las más frecuentes enfermedades gastrointestinales funcionales, afectando del 10 al 20% de la población. El diagnóstico está basado en la identificación de síntomas de acuerdo a los criterios de ROMA I y ROMA II y exclusión de síntomas o signos de alarma. El tratamiento está basado en una excelente relación médico-paciente así como la prescripción de medicamentos dirigidos al órgano blanco, especialmente durante las exacerbaciones. Para el dolor abdominal, los antiespasmódicos, tienen a lo sumo una modesta eficacia. Los

antidepresivos tricíclicos en dosis bajas son útiles. Para la diarrea, son útiles los antagonistas opioides, especialmente loperamida, pero no estos no alivian el dolor.

La fibra y los aumentadores de volumen pueden ayudar en la constipación según algunos ensayos, pero la evidencia es equívoca. Tegaserod, un agonista 5HT4, está disponible en muchos países para su uso en mujeres con Síndrome de Intestino Irritable SII cuyo síntoma predominante es el estreñimiento. Sin embargo, el manejo del Síndrome de Intestino Irritable SII sigue siendo insatisfactorio tanto para los pacientes como para los médicos. Se necesitan nuevas drogas para el Síndrome de Intestino Irritable SII ya que las existen actualmente, generalmente proporcionan resultados subóptimos. (9)

2.2.2 Cáncer Colorrectal

El cáncer colorrectal es el que se origina en el colon o el recto. A estos cánceres también se les puede llamar cáncer de colon o cáncer de recto (rectal) dependiendo del lugar donde se originen. El cáncer de colon y el cáncer de recto a menudo se agrupan porque tienen muchas características comunes.

El cáncer se origina cuando las células en el cuerpo comienzan a crecer en forma descontrolada. Las células de casi cualquier parte del cuerpo pueden convertirse en cáncer y pueden extenderse a otras áreas del cuerpo. (10)

La mayoría de los cánceres colorrectales comienza como un crecimiento llamado pólipo en el revestimiento interno del colon o del recto. Algunos tipos de pólipos pueden convertirse en cáncer en el transcurso de varios años, pero no todos los pólipos se convierten en cáncer. La probabilidad de transformarse en un cáncer depende del tipo de pólipo. Los dos tipos principales de pólipos son:

Pólipos adenomatosos (adenomas): estos pólipos algunas veces se transforman en cáncer. Debido a esto, los adenomas se denominan afecciones precancerosas.

Pólipos inflamatorios y pólipos hiperplásicos: estos pólipos son más frecuentes, pero en general no son precancerosos.

Además del tipo, otras características de los pólipos que pueden aumentar las probabilidades de que contengan cáncer o que un individuo padezca de cáncer colorrectal incluyen: el tamaño (mayor de 1cm), el número encontrado (más de dos), y si se observa displasia en el pólipo después de extirparlo.

La displasia, otra afección precancerosa, es un área del pólipo o del revestimiento del colon o del recto en el que las células tienen un aspecto anormal pero sin llegar a tener la apariencia de células cancerosas verdaderas.

Si se forma cáncer dentro de un pólipo, con el pasar del tiempo, puede comenzar a invadir el espesor de la pared del colon o del recto.

La pared del colon y del recto está compuesta por varias capas. El cáncer colorrectal se origina en la capa más interna (la mucosa) y puede crecer hacia el exterior a través de algunas o de todas las demás capas. Cuando las células cancerosas se encuentran en la pared, éstas pueden crecer hacia los vasos sanguíneos o los vasos linfáticos (canales diminutos que transportan material de desecho y líquido). Desde allí, las células cancerosas pueden desplazarse a los ganglios linfáticos cercanos o a partes distantes del cuerpo.

La etapa (extensión) de un cáncer colorrectal depende de cuán profundamente crece en la pared y si se ha extendido fuera del colon o del recto.

Las etapas del cáncer

Hay varios sistemas diferentes que se usan para describir cuánto ha progresado un cáncer en el momento que se detecta. El sistema de clasificación que se usa para la mayoría de tumores sólidos fue creado por el Comité Conjunto Americano del Cáncer (AJCC, por sus siglas en inglés) y se basa en el concepto de que los cánceres en la misma zona tienen patrones similares de crecimiento y propagación. Para

determinar la etapa, el médico utiliza información acerca de las etapas clínicas y patológicas del cáncer. La etapa clínica se basa en técnicas no-quirúrgicas de diagnóstico, como el examen físico que te hace el médico al igual que los análisis de sangre y las técnicas de imagen. La etapa patológica utiliza la información reunida de la extirpación del tumor y del examen de la zona cercana y de los ganglios linfáticos.

El AJCC clasifica el cáncer de acuerdo al sistema TNM: la "T" representa el tamaño del tumor. La "N" se refiere a la presencia del cáncer en los ganglios linfáticos de la zona y hasta qué punto los ha afectado. La "M" muestra la presencia de una propagación más allá de la zona, es decir, metástasis localizada. Un número subíndice y a veces una letra ofrecen más información específica. Después de designar las letras TNM, el cáncer se clasifica en una de cinco etapas, desde el cáncer no invasivo más pequeño, Etapa 0, hasta el más avanzado, Etapa 4.

Las etapas de ciertos tipos de cáncer, como el cáncer de colon y los cánceres ginecológicos, se clasifican de acuerdo a otros sistemas además del sistema TNM. El cáncer del colon a veces se clasifica de acuerdo al sistema de etapas de Dukes, creado por el patólogo británico Cuthbert Dukes. Se ha propuesto un nuevo sistema de clasificación de etapas para el diagnóstico "carcinoma ductal in situ del seno" que detectaría si hay necrosis (una zona de células muertas) y mediría el grado de las células, pero su utilidad no ha sido comprobada. Algunos sistemas para clasificar etapas son bastante simples y dependen de la posibilidad de remover el tumor quirúrgicamente. Por ejemplo, aunque el cáncer del páncreas se clasifica de acuerdo al sistema TNM, los cirujanos prefieren clasificarlo como extirpable (el tumor se puede remover), avanzado localmente o no extirpable, y metastásico.

Grado Uno de los elementos más importantes de tu diagnóstico es el grado del cáncer porque demuestra cuán agresivo es el cáncer. El grado lo determina un patólogo basándose en un análisis microscópico del tejido del tumor. Anna R. Graham, M.D., una antigua presidenta de la Sociedad Americana de Patólogos Clínicos, explica que un patólogo evalúa tres elementos principales. "El primero es cómo se ven las células individuales. El segundo es el patrón de los tejidos. El tercero es el índice mitótico de

las células. Cuando se reúnen estos tres elementos se sabe qué tan anormales son las células y si están respondiendo a las señales normales para formar las estructuras que deben formar".

Después de evaluar cada uno de estos factores, el patólogo clasifica el cáncer en orden de gravedad usando Grado 1, 2, 3 o 4. Al Grado 1 a veces se le llama "grado bajo", el menos agresivo y al Grado 4 se le llama "grado alto", el más agresivo. "GX" significa que el grado no se puede determinar.

La clasificación del grado es tan importante al tomar decisiones respecto al tratamiento que tal vez quieras considerar una segunda opinión de patología. En algunos centros médicos, todas las muestras de tejidos que resultan ser malignas las examinan más de un patólogo como parte de un control de calidad. Consulta con tu médico para asegurarte de que tus análisis hayan pasado por este control de calidad. Si no fue así, o si quieres una segunda opinión de otra institución, tu médico puede ayudarte a coordinarlo.

2.2.3 Diagnóstico temprano del Cáncer Colorrectal

Encontrar el cáncer cuando se encuentra en sus etapas iniciales a menudo permite la posibilidad de contar con más opciones de tratamiento. En algunos casos de la enfermedad en etapa inicial surgen signos y síntomas que pueden ser notados, pero esto no siempre es así.

Según la American Cancer Society (11), existen varias maneras de detectar tempranamente el cáncer colorrectal:

Las pruebas y exámenes de detección se realizan como parte del proceso de determinar la presencia de cáncer en las personas que no presentan ningún síntoma. Se pueden usar varias pruebas para detectar el cáncer colorrectal. Estas pruebas y exámenes se pueden dividir en:

Exámenes que pueden detectar pólipos y cáncer colorrectal: en estas pruebas se observa la estructura del colon mismo para detectar cualquier área anormal. Se puede hacer con un endoscopio (un instrumento parecido a un tubo con una cámara y una fuente de luz) insertado en el recto o con estudios por imágenes especiales (radiografías). Los pólipos encontrados durante estos exámenes pueden eliminarse antes de que se conviertan en cáncer, por lo que estas pruebas pueden prevenir el cáncer colorrectal. Debido a esto, se favorecen estos exámenes si están disponibles y si usted está dispuesto a someterse a ellos.

Pruebas que principalmente detectan cáncer: por medio de estas pruebas se examinan las heces fecales para determinar si hay signos de cáncer. Estas pruebas son menos invasivas y fáciles de realizar, pero la probabilidad de que detecten pólipos es menor.

Estas y otras pruebas también se pueden hacer cuando la persona presenta síntomas de cáncer colorrectal y de otras enfermedades digestivas, tal como enfermedad inflamatoria intestinal.

Exámenes que pueden detectar pólipos y cáncer colorrectal

Sigmoidoscopia flexible

Durante este examen, el médico observa parte del colon y del recto con un sigmoidoscopio (un tubo con una luz y flexible del grosor aproximado de un dedo y que tiene una pequeña cámara de video en el extremo). Se introduce por el ano y se dirige al recto para llegar a la parte inferior del colon. Las imágenes que se obtienen del endoscopio se observan en una pantalla de video.

Colonoscopia

Para este examen, el médico examina el colon y el recto en toda su extensión con una colonoscopia (un tubo delgado y flexible que tiene una fuente de luz y una pequeña cámara de video en el extremo). Consiste básicamente en una versión más larga de un sigmoidoscopio. Se introduce por el ano hacia el recto y el colon. A través de la colonoscopia, se pueden pasar instrumentos especiales para hacer una biopsia (muestra) o extirpar cualquier área que se vea sospechosa, como pólipos, de ser necesario.

El médico observará las paredes internas del colon conforme retire lentamente el colonoscopio. Si se encuentra un pólipo pequeño, se puede extraer y enviar a un laboratorio para saber si tiene áreas que se hayan tornado cancerosas, ya que algunos pólipos pequeños pueden convertirse en cáncer con el tiempo.

Si su médico observa un pólipo o tumor más grande o cualquier otra anomalía, se realizará una biopsia. Se extrae un pequeño fragmento de tejido a través del colonoscopio. El tejido se examina en el laboratorio para saber si es cáncer, un crecimiento benigno (no canceroso) o una inflamación.

Posibles complicaciones y efectos secundarios: la preparación del intestino antes del examen causa molestias. El examen en sí puede causar molestia, pero el sedante usualmente alivia esto, y la mayoría de las personas se sienten bien una vez que desaparecen los efectos del sedante. Debido a que se bombea aire en el colon durante el examen, algunas personas presentan inflamación abdominal, dolores por gas, o cólicos durante un tiempo después del examen hasta que se expulse el aire.

Algunas personas pueden presentar baja presión sanguínea o cambios en el ritmo cardíaco debido al sedante que se aplica durante el examen, aunque estos efectos usualmente no son graves.

Si se extirpa un pólipo o se realiza una biopsia durante la colonoscopia, podrá notar un poco de sangre en sus excrementos por un día o dos después del examen. El sangrado profuso es poco común, aunque en raras ocasiones puede requerir tratamiento o incluso puede ser potencialmente mortal.

La colonoscopia es un procedimiento seguro, pero en pocas ocasiones el colonoscopio puede perforar la pared del colon o del recto. Esto se conoce como una *perforación*. Los síntomas pueden incluir calambres abdominales intensos, náuseas y vómitos. Esta puede ser una complicación mayor (o incluso potencialmente mortal), ya que puede dar lugar a infección abdominal grave. Puede que sea necesario reparar el orificio con cirugía.

Enema de bario de doble contraste

A este examen también se le denomina enema de bario por contraste de aire o enema de bario con contraste de aire. También se le conoce como radiografía del tracto gastrointestinal inferior (*lower GI series*). Éste es básicamente un tipo de radiografía. Se introduce sulfato de bario, que es un líquido calcáreo, y aire en el colon y el recto a través del ano para delinear el revestimiento interior. Esto puede mostrar áreas anormales en las radiografías. Si se observan áreas sospechosas en este examen, será necesario realizar una colonoscopia para examinarlas aún más.

2.2.4 Colonografía con CT (colonoscopia virtual)

Este estudio es un tipo avanzado de tomografía computarizada (CT o CAT, por sus siglas en inglés) del colon y del recto. Una CT utiliza radiografías, pero en lugar de tomar una fotografía, como la radiografía convencional, se toman muchas imágenes al tiempo que un dispositivo rota a su alrededor mientras usted se encuentra acostado

en una camilla. Luego, una computadora combina estas fotografías en imágenes detalladas de la parte del cuerpo que se está estudiando.

En la colonografía por CT, unos programas especiales de computadora crean imágenes radiológicas en dos dimensiones y una vista tridimensional del interior del colon y del recto, lo que permite al médico detectar pólipos o cáncer.

Este estudio puede ser usado especialmente en las personas que no pueden o no quieren someterse a exámenes más invasivos, como la colonoscopia. Se puede realizar con bastante rapidez y no requiere de un sedante. Pero aun cuando este estudio no es invasivo como una colonoscopia, se necesita el mismo tipo de preparación intestinal. Además, se introduce un tubo pequeño, flexible en el recto para llenar de aire el colon. Otra posible desventaja consiste en que, si se observan pólipos u otras áreas sospechosas en este estudio, probablemente aún habrá que realizar una colonoscopia para extirparlos o examinarlos totalmente.

Pruebas que descubren principalmente cáncer colorrectal

Por medio de estas pruebas se examinan las heces fecales para determinar si hay signos de cáncer. La mayoría de las personas considera que estas pruebas son más fáciles de hacer que exámenes como la colonoscopia. Además, a menudo estas pruebas se pueden hacer en su casa. Sin embargo, estas pruebas no son tan eficaces en encontrar pólipos cuando se comparan con otros exámenes, como la colonoscopia. Además, si el resultado de una de estas pruebas es positivo (anormal), es probable que aún haya que hacer una colonoscopia para saber si usted tiene cáncer.

Prueba de sangre oculta en heces basada en guayacol (gFOBT)

Una manera de realizar una prueba para el cáncer colorrectal consiste en detectar sangre oculta en las heces fecales. Esta prueba se hace porque a menudo los vasos sanguíneos más grandes de los pólipos o los cánceres colorectales son frágiles y se lesionan fácilmente durante el paso del excremento. Los vasos dañados usualmente

liberan sangre en el colon, pero sólo en pocas ocasiones hay suficiente sangre visible en el excremento.

La prueba de sangre oculta en heces basada en guayacol (gFOBT) detecta sangre en las heces a través de una reacción química. Esta prueba no puede indicar si la sangre proviene del colon o de otras partes del tracto digestivo (por ejemplo, el estómago).

Si el resultado es positivo, se necesitará una colonoscopia para saber la razón del sangrado. Aunque la sangre en las heces fecales puede deberse a cánceres o pólipos, también puede ocurrir debido a otras causas, tal como úlceras, hemorroides, diverticulosis (presencia de bolsas diminutas que se forman en zonas débiles en la pared del colon) o enfermedad inflamatoria intestinal (colitis).

Con el pasar del tiempo, esta prueba ha mejorado de manera que hoy en día encuentra el cáncer colorrectal con mayor probabilidad. La Sociedad Americana Contra El Cáncer recomienda las versiones más modernas altamente sensibles de esta prueba para la detección.

Esta prueba debe realizarse cada año, a diferencia de algunas otras pruebas (como la colonoscopia).

Esta prueba se hace con un kit (equipo) que puede usarse en la privacidad de su hogar y que permite que usted tome más de una muestra del excremento. Una FOBT que se tome en el consultorio médico durante un examen digital del recto (la cual solo examina una muestra de excremento) no es suficiente como prueba de detección eficaz.

Las personas que se someten a esta prueba recibirán un kit con instrucciones del consultorio médico o de la clínica. Las instrucciones le indicarán cómo obtener muestras de excremento en su casa (generalmente muestras de tres evacuaciones consecutivas que se colocan en pequeños cuadros de papel). Luego el kit se devuelve al consultorio del médico o a un laboratorio clínico (usualmente en 2 semanas) para su posterior análisis.

Prueba inmunoquímica fecal (FIT)

La prueba inmunoquímica fecal (*fecal immunochemical test*, FIT), también llamada prueba inmunoquímica de sangre oculta en las heces fecales (iFOBT) detecta sangre oculta en el excremento de una manera diferente a la prueba FOBT basada en guayacol. Esta prueba reacciona con parte de la proteína de la hemoglobina humana, la cual se encuentra en los glóbulos rojos.

La prueba FIT se hace (como la gFOBT) con esas pequeñas cantidades de heces que se recogen en las tarjetas (o en los tubos). Puede que para algunas personas esta prueba sea más fácil debido a que no existen restricciones relacionadas con medicamentos o alimentos (las vitaminas y los alimentos no afectan la FIT) y la toma de las muestras puede ser más fácil. Además, es menos probable que reaccione con el sangrado proveniente de otras partes del tracto digestivo, como el estómago.

Prueba de ADN en las heces fecales

La prueba de ADN en las heces fecales busca ciertas secciones anormales de ADN provenientes del cáncer o de células de pólipos. A menudo, las células de los cánceres colorrectales contienen mutaciones del ADN (cambios) en ciertos genes.

Las células de los cánceres colorrectales o de los pólipos con estas mutaciones a menudo llegan hasta las heces fecales, y las pruebas pueden detectarlas. La prueba Cologuard[®], disponible en la actualidad, también identifica sangre en las heces fecales.

2.2.5 Biomarcadores

Los marcadores de tumores son sustancias producidas por las células cancerosas o por otras células del cuerpo como respuesta al cáncer o a ciertas afecciones benignas (no cancerosas). La mayoría de los marcadores de tumores son producidos tanto por las células normales como por las células cancerosas; sin embargo, se producen en concentraciones más altas en enfermedades cancerosas. Estas sustancias pueden encontrarse en la sangre, en la orina, en la materia fecal, en tejido de tumores o en otros tejidos o líquidos del cuerpo de algunos pacientes con cáncer. La mayoría de los marcadores de tumores son proteínas. Sin embargo, más recientemente, los patrones de expresión de los genes y los cambios de ADN han empezado a usarse como marcadores de tumores. (12)

Muchos marcadores de tumores diferentes se han caracterizado y se usan en la clínica médica. Algunos están asociados con un solo tipo de cáncer, mientras que otros están asociados con dos o más tipos de cáncer. No se ha encontrado un marcador de tumores "universal" que pueda detectar cualquier tipo de cáncer.

Hay algunas limitaciones para el uso de marcadores de tumores. Algunas veces, situaciones benignas pueden causar que aumenten las concentraciones de algunos marcadores de tumores. Además, no todas las personas que tienen un tipo particular de cáncer tendrán una concentración elevada de un marcador de tumores asociado con ese cáncer. Y, aún más, no se han identificado los marcadores de tumores para cada tipo de cáncer.

En el cáncer colorrectal, el estudio de marcadores tumorales en heces tiene una función eminentemente diagnóstica. La determinación más empleada es la sangre oculta en heces, bien mediante el test de guayaco o bien mediante los test inmunológicos. De acuerdo con la NCCN (National Comprehensive Cancer Network) debe realizarse en tres muestras sucesivas, obtenidas durante la cumplimentación de una dieta preestablecida.

Enzima Piruvato Quinasa (M2PK) en heces

Según define la COPRO.COM.AR, Tumor M2-PK es un sinónimo para la dimérica forma de la piruvato quinasa isoenzima tipo (M2PK), una enzima clave dentro de metabolismo del tumor. Tumor M2-PK puede estar elevada en muchos tipos de tumores, en lugar de ser un órgano-específicas marcadores tumorales tales como PSA. (13)

La técnica de Sándwich de ELISA basado en dos anticuerpos monoclonales que reconocen específicamente Tumor M2-PK (forma dimérica de M2-PK) están disponibles para la cuantificación del Tumor M2-PK en muestras de plasma con EDTA y heces respectivamente. Como un biomarcador, la cantidad de Tumor M2-PK en heces y plasma con EDTA refleja el estado metabólico específico de los tumores.

Detección temprana de tumores colorrectales y pólipos

El M2-PK, medido en heces, es un marcador tumoral potenciales para cáncer colorrectal. Cuando se mide en heces con un valor de corte de 4 U/ml, su sensibilidad se ha estimado que el 85% (con un 95% intervalo de confianza de 65 a 96%) para el cáncer de colon y el 56% (intervalo de confianza [41 – 74%]) para el cáncer rectal.^[1] Su especificidad es del 95%. (14)

La prueba M2-PK no es dependiente de sangre oculta (ELISA método), así que puede detectar cáncer de intestino cuando existe sangrado y también pólipos con alta sensibilidad y alta especificidad con ningún falso positivo. (15)

La mayoría de las personas están más dispuestos a aceptar chequeos médicos preventivos no invasiva. Por lo tanto, la medición del Tumor M2-PK en muestras de materia fecal con seguimiento por colonoscopia para clarificar los resultados positivos de Tumor M2-PK, podría ser un avance en la detección temprana de los carcinomas colorrectales. El marcado CE Prueba m2-PK está disponible en forma de una prueba de ELISA para resultados cuantitativos o como punto de prueba de atención para recibir resultados en minutos.

También es útil para diagnosticar el tumor M2-PK Cáncer de pulmón y mejor que SCC y NSE marcadores tumorales.

Seguimiento del cáncer

Estudios de varios grupos de trabajo internacionales han revelado una cantidad significativamente mayor de Tumor M2-PK en muestras de plasma con EDTA de pacientes con insuficiencia renal, cáncer pulmonar, de mama, tumores cervicales y del aparato digestivo (esófago, estómago, páncreas, colon, recto), así como de melanoma (cáncer de piel), que se correlaciona con la estadio tumoral.

La combinación de Tumor M2-PK con el marcador del tumor clásico apropiados, tales como CEA para el cáncer de intestino, CA 19-9 para el cáncer pancreático y CA 72-4 para el cáncer gástrico, aumenta significativamente la sensibilidad para detectar varios tipos de cáncer.

Un uso importante de la prueba de Tumor M2-PK en plasma con EDTA es de seguimiento durante la terapia de tumores, para supervisar el éxito o fracaso del

tratamiento elegido, así como predecir las posibilidades de una "cura" y la supervivencia.

Si los niveles de Tumor M2-PK disminuyen durante la terapia y luego se mantienen bajos después de la terapia apunta hacia un tratamiento exitoso. Un aumento en los valores de Tumor M2-PK durante o después de la terapia apunta a recidiva o metástasis.

Los valores crecientes de Tumor M2-PK a veces también pueden ocurrir en severas enfermedades inflamatorias, que debe ser excluido por diagnóstico diferencial.

Antígeno Carcino Embrionario en sangre CEA.

El examen de antígeno carcinoembrionario (CEA) es un análisis de sangre que determina el nivel de la proteína de antígeno carcinoembrionario en la sangre. La proteína de antígeno carcinoembrionario está presente en el embrión en desarrollo, pero desaparece de la sangre al momento del nacimiento y normalmente permanece en niveles indetectables en la edad adulta. Cuando el antígeno carcinoembrionario aparece en la sangre de un adulto, esto puede indicar la presencia de cáncer, incluido el cáncer de páncreas. Sin embargo, el examen no se usa para diagnosticar el cáncer de páncreas porque no todos los tumores pancreáticos producen la proteína del antígeno carcinoembrionario. (16)

Otros tumores, como el cáncer de colon, también pueden producir un aumento en el Antígeno Carcinoembrionario. Además, muchas condiciones, como fumar, pueden aumentar la concentración de antígeno carcinoembrionario en la sangre, incluso si no se presentan tumores. Al igual que con el CA 19-9, el examen de antígeno carcinoembrionario no se puede usar como una herramienta de diagnóstico ni como prueba de detección del cáncer de páncreas. La determinación de los niveles de antígeno carcinoembrionario en la sangre es muy eficaz para vigilar si un tumor

pancreático existente responde al tratamiento. Si un tumor pancreático produce la proteína antígeno carcinoembrionario y se realiza una cirugía para extirparlo, los niveles de antígeno carcinoembrionario en la sangre debieran normalizarse.

PRUEBA DEL ANTIGENO CARCINO EMBRIONARIO (CEA).

La prueba del Antígeno Carcino Embrionario CEA, es un test inmunológico in vitro para la determinación cuantitativa del antígeno carcinoembrionario en suero y plasma humanos. Se aplica además en mediciones en serie de antígeno carcinoembrionario como auxiliar en el tratamiento de pacientes de cáncer.

Este inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (electrochemiluminescence immunoassay) “ECLIA” está concebido para su empleo en los analizadores automáticos Elecsys y Cobas e.

Obtención y preparación de las muestras

El suero debe ser recogido en tubos estándar de muestra o en tubos que contienen gel de separación.

Plasma tratado con heparina de litio, heparina de sodio, EDTA tripotásico y citrato sódico. Si se emplea citrato sódico como anticoagulante, corregir los resultados en + 10 %.

Criterio: Recuperación dentro de 90- 110 % del valor sérico o bien, la pendiente 0.9- 1.1 + intersección dentro de $< \pm 2x$ de la sensibilidad analítica (LID) + coeficiente de correlación > 0.95 .

Estabilidad: 7 días a 2- 8 °C, 6 meses a -20 °C.8

Los tipos de muestra aquí indicados fueron analizados con tubos de recogida de muestras seleccionados, comercializados en el momento de efectuar el análisis, lo cual significa que no fueron analizados todos los tubos de todos los fabricantes. Los sistemas de recogida de muestras de diversos fabricantes pueden contener diferentes materiales que, en ciertos casos, pueden llegar a afectar los resultados de los análisis. Si las muestras se procesan en tubos primarios (sistemas de recogida de muestras), seguir las instrucciones del fabricante de tubos.

Centrifugar las muestras que contienen precipitado antes de realizar el ensayo.

No emplear muestras inactivadas por calor.

No utilizar muestras ni controles estabilizados con acida.

Se debe garantizar una temperatura de 20- 25 °C para la medición de muestras, calibradores y controles.

Para evitar posibles efectos de evaporación, determinar las muestras, los calibradores y los controles que se sitúan en los analizadores dentro de un lapso de 2 horas.

Realización del test

Para garantizar el funcionamiento óptimo del test, se debe seguir las instrucciones del fabricante referentes al analizador empleado. Consultar el manual del operador apropiado para obtener las instrucciones de ensayo específicas del analizador.

Las micropartículas se mezclan automáticamente antes del uso. Los parámetros de test se introducen a través de los códigos de barras impresos en el reactivo. Pero si, excepcionalmente, el analizador no pudiera leer el código de barras, el código numérico de 15 cifras deberá introducirse manualmente.

Antes del uso, atemperar los reactivos refrigerados a aproximadamente 20 °C y colocarlos en el rotor de reactivos (20 °C) del analizador. Evitar la formación de espuma. El analizador realiza automáticamente los procesos de atemperar, abrir y tapar los frascos.

Calibración

Trazabilidad: El presente método ha sido estandarizado frente al primer estándar de referencia IRP 73/601 de la OMS.

Cada reactivo Elecsys contiene un código de barras que incluye información específica para la calibración del lote de reactivos. La curva máster predefinida es adaptada al analizador a través del CalSet correspondiente.

Intervalo de calibraciones: Efectuar una calibración por lote con reactivo fresco (registrado como máximo 24 horas antes en el analizador). Se recomienda repetir la calibración:

- Tras 1 mes (28 días) si se trata del mismo lote de reactivos
- Tras 7 días (al emplear el mismo estuche de reactivos en el analizador)
- En caso necesario: p. ej. Si el control de calidad se encuentra fuera del intervalo definido

Control de calidad

Para el control de calidad, emplear PreciControl Tumor Marker. Adicionalmente pueden emplearse otros controles apropiados.

Los controles de los diferentes intervalos de concentración deberían efectuarse junto con el test en determinaciones simples por lo menos 1 vez cada 24 horas, con cada estuche de reactivos y después de cada calibración.

Adaptar los intervalos y límites de control a los requisitos individuales del laboratorio. Los resultados obtenidos deben hallarse dentro de los límites definidos. Cada laboratorio debería establecer medidas correctivas a seguir en caso de obtener valores fuera del intervalo definido.

Cumplir con las regulaciones gubernamentales y las normas locales de control de calidad pertinentes.

Cálculo

El analizador calcula automáticamente la concentración de analito de cada muestra (en ng/mL o µg/L). 1 ng/mL de CEA corresponde a 16.9 mUI/mL.

2.3 Hipótesis

La determinación de la Enzima Piruvato Quinasa (M2PK) en heces y el Antígeno Carcino Embrionario en sangre apoyan el diagnóstico temprano del Cáncer Colorrectal en pacientes que presentan sintomatología de Síndrome de Intestino Irritable.

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1 Nivel y Tipo de investigación

La investigación es de tipo cuali-cuantitativa, cualitativa porque se determina una participación directa con los pacientes que se realizan las pruebas estableciendo su nivel de aceptación al proceso; es cuantitativa porque con la aplicación de la encuesta se obtiene resultados que pueden ser tabulados matemática y estadísticamente.

Además el presente trabajo comprende varios métodos de investigación, como el analítico, observacional transversal, de casos y controles La investigación tipo encuesta se lo realiza como un estudio analítico, transversal, debido a que centra en la recolección de datos, con ello se podrá analizar la exposición de un hecho en un momento específico,

3.2 Selección del área o ámbito de estudio

Área: Salud

Objeto: La determinación de la enzima M2PK y el CEA en pacientes con sintomatologías gastrointestinales como el Síndrome de Intestino Irritable.

Delimitación espacial.

Provincia: Tungurahua

Ciudad: Pelileo

Delimitación temporal: Periodo Abril- Septiembre del 2017

3.3 Población

La población estuvo constituida por 40 pacientes atendidos durante el período abril-septiembre de 2017 en el Hospital Básico Pelileo, los datos se obtuvieron a través del Departamento de Epidemiología donde se observaron todos los registros de consulta externa y se eligieron los registros donde el facultativo marcó, la existencia de problemas gastrointestinales como el síndrome de intestino irritable y otros problemas gastrointestinales como hemorroides, cáncer de colon, colitis ulcerosa y sangrado digestivo bajo.

Tomando en cuenta la base de datos del Hospital Básico Pelileo se revisaron todas las historias clínicas para determinar los pacientes que cumplen con el protocolo de estudio y quienes podían participar en el mismo, de acuerdo con los siguientes criterios.

Criterios de inclusión

- Ser mayor de 18 años
- Firmar el consentimiento informado
- Haber sido diagnosticado con problemas gastrointestinales
- Haber sido diagnosticado con síndrome de intestino irritable (criterios ROMAIII) Caracterización demostrable de un subtipo específico de Síndrome de Intestino Irritable

Criterios de Exclusión:

- Incapacidad para dar su consentimiento informado
- Pacientes con gastritis
- Pacientes con intolerancia a la lactosa
- Infección estomacal ocasional
- Parasitosis

3.4 Operacionalización de las variables

Tabla No 01: Variable independiente: Biomarcador Enzima Piruvato Quinaza, Antígeno Carcino Embrionario CEA

CONCEPTUALIZACIÓN	DIMENSIONES	INDICADORES	ITEMS	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS
<p>M2-PK es un sinónimo para el dimérica forma de la piruvato quinasa isoenzima tipo M2) PKM2), una enzima clave dentro de metabolismo del tumor. Tumor M2-PK puede estar elevada en muchos tipos de tumores.</p> <p>Antígeno Carcino Embrionario (CEA) es una glicoproteína con un peso molecular de 180 kDA mide el nivel de CEA en la sangre. El CEA es el marcador más ampliamente utilizado para cáncer gastrointestinal.</p>	<p>Isoenzima de piruvato Quinasa</p> <p>Marcador tumoral</p> <p>Glicoproteína de 180 kDA</p> <p>Se puede encontrar en la sangre de las personas que sufren de cáncer de colon, otros tipos de cáncer</p>	<p>Niveles bajo, positivo o negativo</p> <p>Eficiencia de la prueba</p> <p>Precisión de la prueba</p>	<p>1.- ¿Tiene usted actualmente algún problema de tipo gastrointestinal diagnosticado por un médico?</p> <p>2.- ¿Se ha realizado últimamente algún tipo de prueba de laboratorio para detectar si tiene algún tipo de problema gastrointestinal?</p> <p>3.- ¿Sabe usted si actualmente padece de Síndrome de Intestino irritable?</p> <p>4.- ¿Le han solicitado realizarse algún tipo de prueba de laboratorio para conocer si podría padecer de cáncer colorectal?</p> <p>5.- ¿Tiene usted conocimiento si actualmente existen nuevas pruebas de laboratorio, para detectar cáncer colorectal que se estén realizando en los laboratorios?</p> <p>6.- ¿Tiene usted conocimiento de la pruebas M2PK (Piruvato quinasa) y el Antígeno Carcino Embrionario para detección de cáncer colorectal que se están aplicando en los laboratorios?</p> <p>7.- ¿Estaría usted dispuesto a realizarse las pruebas de laboratorio M2PK y el Antígeno Carcino embrionario CEA?</p> <p>8.- ¿Después de que se le ha explicado sobre la existencia de la prueba M2PK considera usted que la prueba de laboratorio M2PK (Piruvato Quinasa) y CEA le brindaría un buen nivel de efectividad en los resultados?</p> <p>9.- ¿Si su médico tratante le recomienda el realizarse la prueba de laboratorio M2PK (Piruvato Quinasa) para obtener un buen nivel de efectividad, estaría dispuesto a realizarse?</p> <p>10.- ¿De resultar efectiva las pruebas de laboratorio M2PK y CEA estaría usted dispuesto(a) recomendar a otros pacientes?</p>	<p>Encuesta</p> <p>Muestras</p> <p>Análisis de laboratorio</p> <p>Equipo</p> <p>Reactivos</p> <p>Consentimiento informado</p>

Elaborado por: La Investigadora

Tabla N°02. Variable dependiente: Síndrome de Intestino Irritable y otros problemas gastrointestinales

CONCEPTUALIZACIÓN	DIMENSIONES	INDICADORES	ITEMS	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS
<p>Es un cuadro crónico y recidivante caracterizado por la existencia de dolor abdominal y/o cambios en el ritmo intestinal, acompañados o no de una sensación de distensión abdominal, sin que se demuestre una alteración en la morfología o en el metabolismo intestinales, ni causas infecciosas que lo justifiquen</p> <p>Se consideran para el estudio pacientes con síntomas de otros problemas gastrointestinales como hemorroides, cáncer de colon, colitis ulcerosa y sangrado digestivo bajo</p>	<p>Cuadro crónico</p> <p>Dolor abdominal</p> <p>Alteración del metabolismo gastrointestinal</p>	<p>Dolor abdominal</p> <p>Estreñimiento</p> <p>Diarrea</p> <p>Infecciones estomacales recurrentes</p> <p>Presencia de sangre en las heces fecales</p>	<p>¿Ha sido usted diagnosticado con Síndrome de Intestino Irritable u otros problemas gastrointestinales como hemorroides, cáncer de colon, colitis ulcerosa y sangrado digestivo bajo?</p> <p>¿Está usted actualmente en tratamiento?</p>	<p>Encuesta</p> <p>Historias clínicas</p>

Elaborado por: La Investigadora

3.5 Descripción de la intervención y procedimientos para la recolección de información

La Encuesta

Es realizado mediante un cuestionario en la que los encuestados respondieron por escrito a preguntas cerradas. El cuestionario sirve de enlace de la realidad estudiada sobre las variables motivo de investigación.

Validez

La validez es determinada a través del análisis e interpretación de resultados considerando que una vez aplicada y tabulados los datos puedan llegar a tener coherencia entre los resultados obtenidos y el problema detectado.

Confiabilidad

La medición es confiable si al aplicar la encuesta a otra población y muestra por investigadores diferentes proporcionan resultados iguales o parecidos.

3.6 Aspectos éticos

En esta fase se determina como punto clave la confidencialidad de identidad de los encuestados, así como la difusión de resultados

1. Proceso del consentimiento informado
2. Confidencialidad de la información obtenida
3. Informe de los resultados de las pruebas a los participantes

DESCRIPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN Y PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

La presente investigación se realizó en el Hospital Básico Pelileo en el periodo Abril - Septiembre 2017, la parte práctica se realizó durante los meses Agosto-Septiembre, analizando e interpretando los resultados de los participantes del estudio

También se basó en la recopilación de datos a través del departamento de epidemiología del hospital tomando en cuenta los datos del paciente, historias clínicas lo que me facultó obtener información real y específica sobre la investigación.

Se trabajó conjuntamente con el Especialista Dr. Médico Cirujano Marco Toapanta en el que los pacientes se harán tratar.

Se hizo También el pedido del Nuevo Biomarcador M2pk Enzima Pirubato Quinasa en heces directamente a la casa comercial ScheBo® • Biotech AG en Alemania con la ayuda de la licencia de un ingeniero en comercio exterior.

Para lo cual se siguió el siguiente esquema:

1. Solicitar la autorización mediante oficio al Licenciando. Marco Escobar Director del Hospital Básico Pelileo para que se me permita realizar la investigación en la institución.
2. Entregar el ante-proyecto al Dr. Médico Cirujano Marco Toapanta en el cual los pacientes acudirán con los resultados.
3. Se revisó en el sistema de datos el número de historia, datos de los pacientes que han acudido con mi tema de investigación y anotarlos en el cuaderno de notas.
4. Se solicitó hablar con la jefa de laboratorio Dra. Gioconda Medina para coordinar los horarios en que se asistirá al centro a realizar la investigación

5. Seleccionar a las pacientes que formarán parte de la investigación mediante los criterios de inclusión y exclusión.
6. Proceder a llamar a los pacientes explicado el motivo de estudio.
7. Explicar al paciente el procedimiento.
8. Pedir al paciente que firme un consentimiento informado.
9. Pedir al paciente que llene el formulario de las encuestas planteadas.

INSTRUCCIONES PARA LA RECOLECCION DE LAS HECES AL PACIENTE

- Tomar una parte de las heces en un recipiente estéril de boca ancha y tapa rosca
- Traer las heces la primera deposición.
- No requiere ninguna dieta antes de tomar la muestra.
- Tras tomar la muestra de heces esta no debe conservar durante más 48 horas.
- No traer las heces muy acuosas.

TOMA DE MUESTRA DE SANGRE.

- No requiere ayuno.
- La extracción de sangre se lo realizara en el laboratorio.

Análisis de las muestras

El Primer procedimiento que se llevó a cabo fue tomar las muestras sanguíneas por punción venosa, en un tubo tapa amarilla con gel separador para la determinación del Antígeno Carcino Embrionario (CEA).

El Segundo Procedimiento que se llevó a cabo fue pedir al paciente que traiga al laboratorio una muestra de heces para la determinación de la Enzima Pirubato Quinasa M2pk.

MATERIALES Y EQUIPOS DE LABORATORIO

- Normas de bioseguridad
- Temporizador (Timer)
- Mandil
- Guantes
- Rotulador

- Gorro
- Mascarilla
- Zapatones
- Tubos de ensayo al vacío tapa Amarilla con gel separador
- Recipiente para corto - punzantes
- Torniquete
- Torundas de algodón
- Alcohol antiséptico
- Cápsula para vacutainer
- Aguja para vacutainer

Equipos de laboratorio

- Centrífuga.
- El Analizador cobas e 411 (Electroquimioluminiscencia)
- Reactivos de Roche CEA Para la determinación del Antígeno Carcino Embrionario
- Controle y Calibradores
- Kit de las prueba M2PK. ScheBo® • Biotech AG

MÉTODOS

Procedimiento para la venopunción.

- Explicar al paciente el procedimiento que le vamos a practicar, previo a la aceptación por medio del consentimiento informado.
- En el registro de resultados, anotaremos el nombre, apellidos y edad de cada paciente.
- Preparar todo el material necesario, (aguja y cápsula para vacutainer, tubos, guantes, alcohol, torniquete, torundas y gradilla).
- Procedemos a lavarnos las manos con agua y jabón, nos secamos las manos y luego nos colocamos los guantes.
- Colocamos de una manera cómoda al paciente para poder realizar una buena venopunción.
- Seleccionamos la vena a canalizar mediante la visión o el tacto, pidiéndole al paciente que haga puño.

- Desinfectar el punto de punción con torundas humedecidas en alcohol antiséptico.
- Colocamos el torniquete en el brazo (para producir la dilatación de la vena) y procedemos a canalizar la vena en dirección contraria al flujo sanguíneo, (con un ángulo de 15° respecto al brazo, con el bisel de la aguja hacia arriba), procedemos a retirar el torniquete en el momento que comienza a fluir la sangre en el tubo, y de la misma manera le pedimos al paciente que abra el puño.
- Una vez recogida la muestra, sacamos la aguja despacio, de manera de no hacerle doler al paciente, colocamos la torunda en el área de punción, a continuación colocamos un apósito en el área puncionada y le pedimos al paciente que mantenga estirado el brazo por unos minutos.
- Retirar el material usado, (colocándolo de manera adecuada en los desechos correspondientes comunes, infecciosos y cortopunzantes).
- Lavarse las manos nuevamente, y registrar el procedimiento. Luego de la recolección, las muestras fueron llevadas para procesarlas.
- Se procede a centrifugar las muestras para separar los sueros y determinar los niveles de CEA (Antígeno Carcino Embrionario), para lo cual se utilizaron reactivos de la casa comercial Roche y equipo Automatizado El Analizador cobas e 411 (Electroquimioluminiscencia)
- Para el cumplimiento de uno de los objetivos de la investigación se tuvo que realizar la determinación de la M2PK (Enzima Pirubato Quinasa) en heces para la detección de cáncer de colon.

Procedimiento Para el Análisis M2pk Enzima Pirubato Quinasa

Materiales incluidos en el kit de prueba.

- Punta dosificadora amarilla.
- Cono azul,
- Tampón de extracción.
- Pipeta
- Marcador rotulador
- Caja de análisis

Procedimiento

1. Rotular las muestras.
2. Homogenizar las muestra.
3. Comprobar que todos los posillos de la punta dosificadora blanca estén llenos de heces.
4. Gire la punta dosificadora amarilla del sistema de extracción hacia la izquierda y extraer del cono azul. Elimine la punta dosificadora amarilla.
5. Girar la punta dosificadora blanca del tubo hacia la izquierda y extraer con la muestra de heces.
6. Introducir la punta dosificadora blanca con la muestra de heces girar la punta dosificadora hacia la derecha para cerrar.
7. Agitar bien hasta que se suelten las heces de todos los posillos de la punta dosificadora.
8. Dejar reposar 10 minutos.
9. Agitar una vez más: i ya no debe tener heces en la punta dosificadora. Si las heces todavía no se han soltado de la punta dejar reposar hasta 1 hora agitando repetidas veces.
10. Tomar el cassette de funda de aluminio.
11. Extraer con la pipeta la muestra del tubo de sistema de extracción.
12. Dejar caer 4 gotas de la muestra en el cassette.
13. Esperar exactamente 5 minutos y leer el resultado. Las lectura posteriores pueden dar falsos positivos.

Procedimiento Para el Análisis CEA Antígeno Carcino Embrionario

1. Las muestras deben estar codificadas y centrifugadas.
2. Mantenimiento diario del equipo.
3. Vaciar el recipiente de los desechos el cual se encuentra en la parte interior derecha del equipo, el recipiente es de color celeste, el cual posee una etiqueta de “Riesgo biológico” (Para eliminar desechos sólidos el equipo debe estar encendido y en Standby, se procede a abrir el compartimiento, retirar la bandeja de desechos y desechar).



4. Verificar que el recipiente que contiene la solución detergente tenga un volumen adecuado de solución, este Se encuentra en la parte interior derecha del equipo, es un recipiente blanco con una capacidad de 3.0 L, se recomienda cuando el nivel este en 1L botar, enjuagar y llenar nuevamente el recipiente. La solución detergente se prepara colocando 1 mL de SysWash (Polidocanol 7.5%, se encuentra refrigerado), y 1 Litro de Agua desionizada.



5. Destapar los frascos de ProCell y CleanCell, los cuales se encuentran en el siguiente orden de izquierda a derecha: PC2-CC2-PC1-CC1 (Se debe cambiar el orden de los reactivos cuando PC1-CC1 estén en un nivel bajo, lo cambiamos en la posición de PC2-CC2, para esto el equipo debe estar encendido y en Standby, se procede a realizar escaneo de reactivos después del proceso).
6. Sacar la tapa del disco de reactivos, tiene un seguro para abrir/cerrar, este cuenta con 18 canales para un uso simultaneo de hasta 18 parámetros.
7. Sacar de la refrigeradora los reactivos que se va a utilizar, con mucho cuidado, colocar preferiblemente desde la primera posición, los reactivos encajan perfectamente en el canal, destapar un poco las tres tapitas de cada reactivo, para no forzar el brazo que destapa las mismas.



8. Se recomienda limpiar cada semana el anillo de cerámica de la pipeta, con la ayuda de una gasa y agua destilada, también limpiar la superficie del equipo para eliminar el polvo que se acumula.

9. Colocar una nueva gradilla con puntas y cubetas en caso de que este esté vacío, no rellenar, se cambia solo cuando la gradilla está totalmente vacía.
10. Encender el equipo, asegurarse que esté conectado a la corriente eléctrica encendido el UPS, primero encender el botón de la entrada de energía (lado inferior derecho) y luego el botón del sistema (frontal izquierdo), el botón de encendido de la pantalla siempre pasa encendido.
11. Nos da una alarma, es causada por la temperatura en la que se encuentra el equipo apagado, eliminar el error, no hay que tomar medidas al respecto, el equipo controla la temperatura en el lapso de unos 5 minutos.
12. Salir de esa página, e ingresar, ID OPERADOR: bmserv y CLAVE: nakakojo (todo en minúsculas)
13. Nos aparece la pantalla principal del equipo en la cual se va a encontrar los siguientes menús y opciones a realizar.



14. El sistema cuenta con 15 menús en la pantalla central y 7 menús alternos ubicados al lado derecho de la pantalla.

MENÚ PRINCIPAL	MENÚ ALTERNO
1. MANTENIMIENTO	1. STOP
2. BORRAR RESULTADOS	2. CERRAR SESIÓN
3. LISTA CARGA DE REACTIVOS	3. STOP
4. LISTA CARGA CALIB/CC	4. MODO STAT
5. DESCARGA PARÁMETROS	5. ALARMA
6. SEGUIMIENTO DE MUESTRAS	6. IMPRIMIR
7. VISTA DE IMPRESIÓN	7. INICIO

8. TEMPERATURA	
9. ALARMA	
10. ESCANEEO DE REACTIVOS	
11. TRABAJO	
12. REACTIVOS	
13. CALIBRACIÓN	
14. CC	
15. UTILIDADES	

15. **Escaneo de reactivos.-** Esta opción va a escanear niveles de ProCell, CleanCell, Puntas, Cubetas, Desechos, y los Reactivos colocados en el Rotor de Reactivos. Es importante escanear antes de poner en funcionamiento al equipo.

16. **Trabajo.-**Esta opción es la más utilizada, ya que aquí es donde se va a ingresar las pruebas que se desea procesar.

SELECCIÓN TESTS

- Ingresar los datos del paciente
- Seleccionar las pruebas que se va a procesar
- Guardar
- Asegurarse que la posición asignada en el sistema coincida con la posición de la muestra en el Rotor de muestras. (Revisión Resultados)
- Colocar el tubo con el código de barras de parada al final de nuestras muestras.
- El código debe estar dirigido hacia el lector de código de barras
- Se tiene también la opción de seleccionar el Test como: Rutina (N), Urg (E), Repet (R). Tipo: Suero/PI, Orina, Otros.
- También se tiene la opción de diluir la muestra que se va a procesar.
- En la pantalla existe la opción: Revisión de Test, la cual muestra el estado de procesamiento del mismo.

17. Calibración

18.- Tabulación estadística de cuadros según las variables.

19.- Estudio estadístico de datos para presentación de resultados.

20.- Conclusiones.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 PRUEBA M2PK.

De la aplicación de la encuesta en los 40 pacientes encuestados el 100% expresa no tener conocimiento de la existencia de la prueba M2PK (Piruvato quinasa) y el Antígeno Carcino Embrionario para detección de cáncer colorectal, lo que significa que existe un total desconocimiento de este tipo de pruebas debido a que la solicitud de las pruebas las realiza el médico tratante y los pacientes solo se rigen a los resultados.

Sin embargo se puede notar que los pacientes confían plenamente en los médicos que solicitan realizarse las pruebas por lo que la mayoría de ellos a pesar del desconocimiento, estarían dispuestos a realizarse estas pruebas de laboratorio lo que con el fin de conocer su diagnóstico preciso, ya que la prueba M2PK (Piruvato Quinasa) por ser nueva le brindaría un buen nivel de efectividad en los resultados.

Una vez aplicada la prueba se define los siguientes resultados que son plasmados en la tabla siguiente:

Tabla N°03. Tabla totalizada de resultados de la aplicación de las pruebas

No.	SINTOMATOLOGÍA PACIENTE	M2PK	CEA
01	Colitis ulcerosa	Positivo	1.17mg-ml
02	Hemorroides internas	Negativo	0.20 mg-ml
03	Sangrado digestivo bajo	Positivo	0.20 mg-ml
04	Hemorroides internas	Negativo	1.85mg-ml
05	Cáncer de colon	Positivo	24.03 mg-ml
06	Cáncer de colon	Positivo	4.06mg-ml
07	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	0.45 mg-ml
08	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	0.52mg-ml
09	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	1.34 mg-ml
10	Síndrome Int. Irrit.	Positivo	2.95mg-ml
11	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	0.52mg-ml
12	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	0.52mg-ml
13	Síndrome Int. Irrit.	Positivo	1.78 mg-ml
14	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	0.35 mg-ml
15	Síndrome Int. Irrit.	Positivo	1.25 mg-ml
16	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	0.38 mg-ml
17	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	1.25mg-ml
18	Síndrome Int. Irrit.	Positivo	0.75mg-ml
19	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	0.29mg-ml
20	Síndrome Int. Irrit.	Positivo	2.00mg-ml
21	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	0.49mg-ml
22	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	1.48mg-ml
23	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	0.67mg-ml
24	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	0.29mg-ml
25	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	0.25mg-ml
26	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	0.25mg-ml
27	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	0.78mg-ml
28	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	0.78mg-ml
29	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	1.25mg-ml
30	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	0.69mg-ml
31	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	0.69mg-ml
32	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	0.28mg-ml
33	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	0.78mg-ml
34	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	0.39mg-ml
35	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	0.35mg-ml
36	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	1.70mg-ml

37	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	0.58mg-ml
38	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	0.20mg-ml
39	Síndrome Int. Irrit.	Negativo	0.576mg-ml
40	Síndrome Int. Irrit.	Positivo	1.58mg-ml

Elaborado por: La Investigadora

Una vez aplicada las pruebas se obtienen los siguientes resultados:

Tabla N°04. Patologías diagnosticadas

DIAGNÓSTICO	FRECUENCIA	%
SINDROME DE INTESTINO IRRITABLE	34	85
HEMORROIDES	2	5
CANCER DE COLON	2	5
COLITIS ULCEROSA	1	3
SANGRADO DIGESTIVO BAJO	1	2

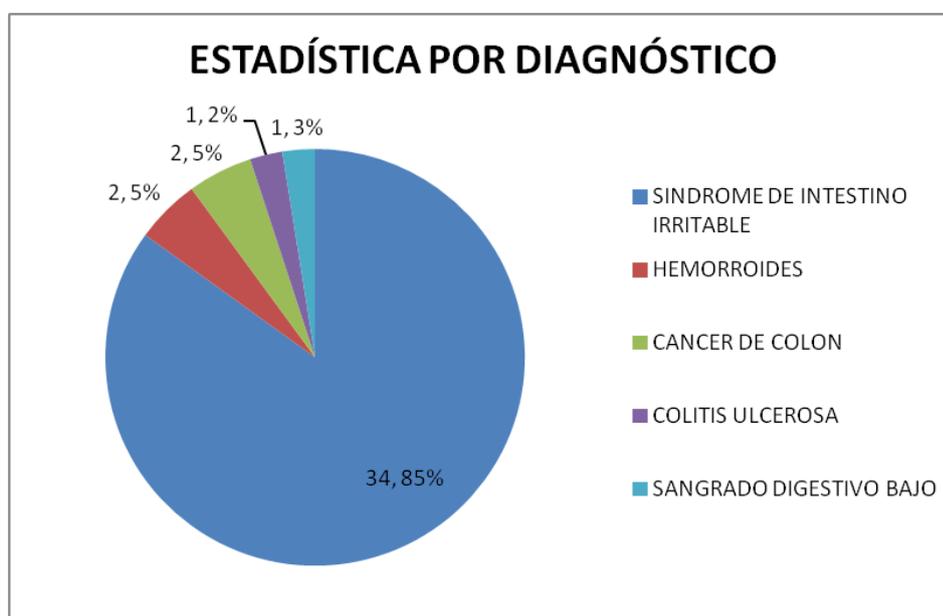


Gráfico No. 01. Estadística por diagnóstico

Elaborado por: La investigadora

Análisis e interpretación.

De esta gráfica se puede determinar que de los pacientes que asisten a realizarse las pruebas M2PK y CEA, existe una gran incidencia de aquellos que presentan Síndrome de Intestino Irritable con un 85%, en referencia a los que presentan otras sintomatologías gastrointestinales.

Tabla N°05. Prueba M2PK

M2PK	CANT.	%
POSITIVOS	10	25
NEGATIVOS	30	75

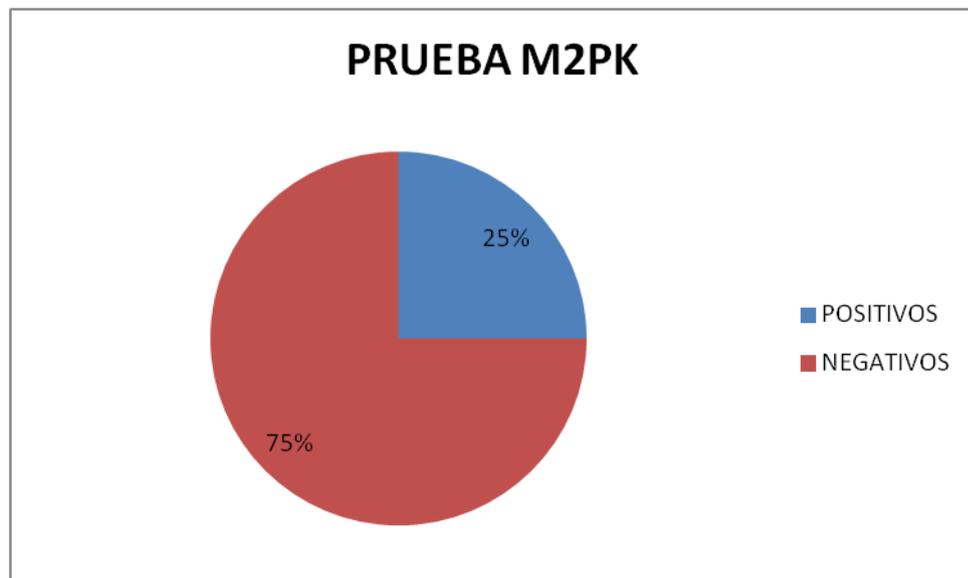


Gráfico No. 02. Determinación de la enzima M2PK

Elaborado por: La investigadora

Análisis e interpretación.

De esta gráfica se puede establecer que la incidencia de cáncer colorectal a nivel de los pacientes, se obtuvo que en 30 pacientes no se detectó lesiones premalignas su porcentaje es de 75%, en referencia a los 10 pacientes que detectó la presencia de la enzima M2PK que dieron positivo con un 25%.

Tabla N°06. Prueba CEA

CEA	CANT.	%
POSITIVOS	2	5
NEGATIVOS	38	95

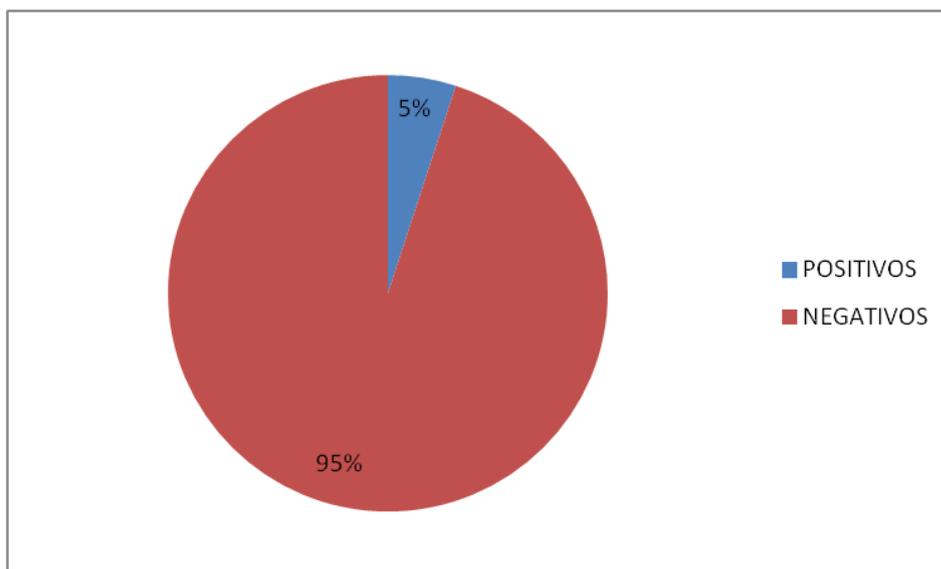


Gráfico No. 03. Incidencia del cáncer colorrectal con prueba CEA

Elaborado por: La investigadora

Análisis e interpretación.

Se puede establecer que la prueba CEA confirma la incidencia de cáncer colorrectal a nivel de los 2 pacientes que ya fueron diagnosticados con cáncer con anterioridad, con un 5 % ya que esta prueba CEA es específica y se usa como un factor pronóstico, mientras que en 38 personas con SII, hemorroides, colitis ulcerosa y sangrado digestivo bajo, su eficacia es baja con un 95%.

4.2. VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS.

En el proceso de verificación de la hipótesis se utilizó el estadígrafo de comparación de medias conocido como T de Student para una muestra, en el Programa SPSS, debido a que se establece de manera independiente la relación entre cada una de las variables objeto de estudio, permitiendo la comparación a partir de la hipótesis que se quiere verificar, es decir como las variables en estudio, son capaces de generar esta comprobación.

4.2.1. PLANTEO DE LA HIPÓTESIS:

HIPÓTESIS ALTERNATIVA (H1):

La utilización de biomarcadores que determinen los niveles de la Enzima Piruvato Quinasa (M2PK) en heces y el Antígeno Carcino Embrionario en sangre apoyarían el diagnóstico temprano del Cáncer Colorrectal en pacientes que presentan sintomatología de Síndrome de Intestino Irritable

HIPÓTESIS NULA (H₀):

La utilización de biomarcadores que determinen los niveles de la Enzima Piruvato Quinasa (M2PK) en heces y el Antígeno Carcino Embrionario en sangre no apoyarían el diagnóstico temprano del Cáncer Colorrectal en pacientes que presentan sintomatología de Síndrome de Intestino Irritable

4.2.2. ESTIMADOR ESTADÍSTICO:

$$t = \frac{\bar{X}}{\frac{\sigma_X}{\sqrt{N-1}}}$$

Nomenclatura

\bar{X} = promedio de la diferencia

σ_X = desviación estándar del promedio de la diferencia

$\sqrt{N-1}$ = raíz cuadrado de n total de la población menos uno

t = t de Student

4.2.3. NIVEL DE SIGNIFICANCIA Y REGLA DE DECISIÓN:

$\alpha = 0,05$

Se acepta la hipótesis nula si el valor a calcularse de T Student es menor al valor de crítico basada en el margen de error = 0,05.

4.2.4. CÁLCULO DEL ESTIMADOR ESTADÍSTICO T Student.

Se realiza la matriz de tabulación cruzada se toma en cuenta los resultados entregados por las pruebas realizadas al grupo control la misma que me permitió evidenciar, los diferentes niveles de CEA que presentaron los individuos objeto de estudio.

Tabla N°07. Tabla de Muestras única CEA

Tabla de Muestras única

	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
CEA	40	1,5003	3,74007	,59136

Tabla de Cálculo de T Student

	Valor de prueba = 0					
	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
					Inferior	Superior
CEA	2,537	39	,015	1,50033	,3042	2,6965

Elaborado por: La investigadora

4.2.5. CONCLUSIÓN:

Con los datos obtenidos a través de la relación entre los resultados de CEA, se puede determinar que es significativo debido a que el valor de t crítica basada en su margen de error es de $0,05 <$. La t calculada de este estudio dio un valor de error de significancia igual a 0,00. Como la t calculada es menor que la t crítica, se rechazó la hipótesis nula y se acepta a la hipótesis alternativa que menciona: “La utilización de biomarcadores que determinen los niveles de la Enzima Piruvato Quinasa (M2PK) en heces y el Antígeno Carcino Embrionario en sangre apoyarían el diagnóstico temprano del Cáncer Colorrectal en pacientes que presentan sintomatología de Síndrome de Intestino Irritable”.

4.3 ANALISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS DE LA ENCUESTA.

Pregunta 1.- ¿Tiene usted actualmente algún problema de tipo gastrointestinal diagnosticado por un médico?

Tabla No. 08. Pregunta 01

Identificación	Frecuencia	% Acumulado
SI	38	95
NO	2	5

Fuente: Encuesta

Elaborado por: La investigadora

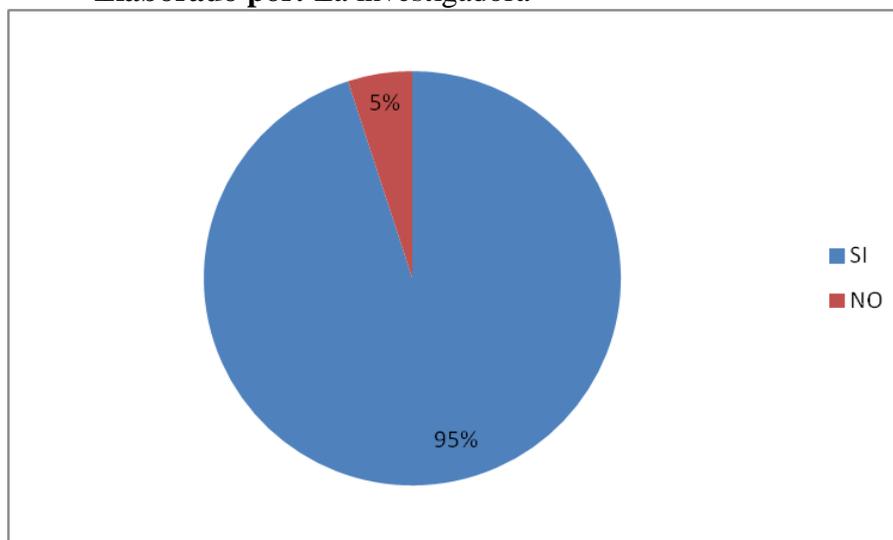


Gráfico No. 04. Pregunta 01

Fuente: Encuesta

Elaborado por: La investigadora

ANALISIS E INTERPRETACION.

De la población total de encuestados, 38 de ellos expresan que, SI Tiene usted actualmente algún problema de tipo gastrointestinal diagnosticado por un médico, esto representa el 95% en tanto que 2 de ellos manifiesta desconoce tener algún problema de este tipo lo que representa el 5%.

Analizada los datos estadísticos se puede determinar que la mayoría de los encuestados tiene pleno conocimiento de que tiene algún tipo de problemas gastrointestinales, por lo que se encuentra en consulta actualmente.

Pregunta 2.- ¿Se ha realizado últimamente algún tipo de prueba de laboratorio para detectar si tiene algún tipo de problema gastrointestinal?

Tabla No. 09. Pregunta 02

Identificación	Frecuencia	% Acumulado
SI	40	100
NO	0	0

Fuente: Encuesta

Elaborado por: La investigadora

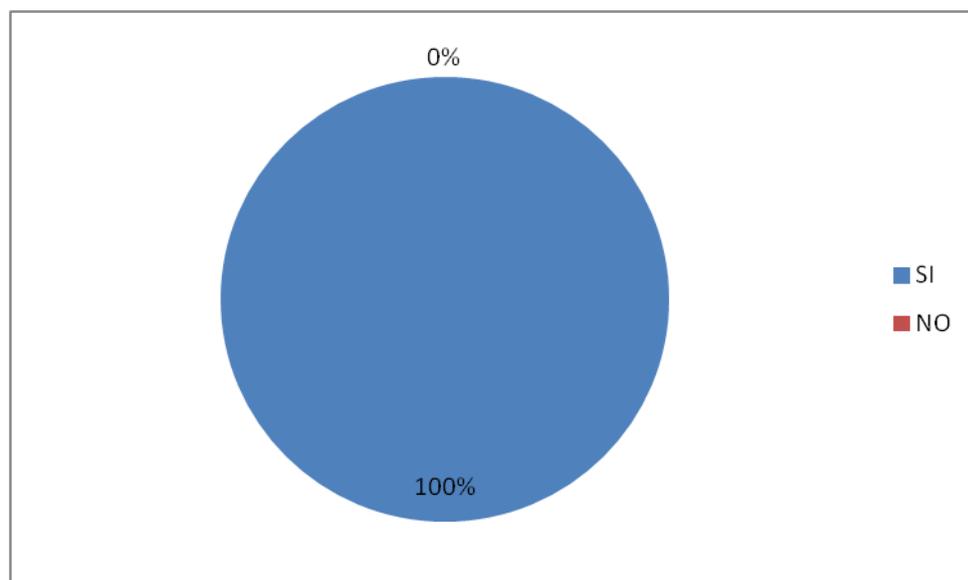


Gráfico No. 05. Pregunta 02

Fuente: Encuesta

Elaborado por: La investigadora

ANALISIS E INTERPRETACION.

Del total de encuestados se determina que, 40 de ellos expresan que SI se ha realizado últimamente una prueba de laboratorio para detectar si tiene algún tipo de problema gastrointestinal, es decir el 100% de ellos.

Pregunta 3.- ¿Sabe usted si actualmente padece de Síndrome de Intestino irritable?

Tabla No. 10. Pregunta 03

Identificación	Frecuencia	% Acumulado
SI	34	85
NO	6	15

Fuente: Encuesta

Elaborado por: La investigadora

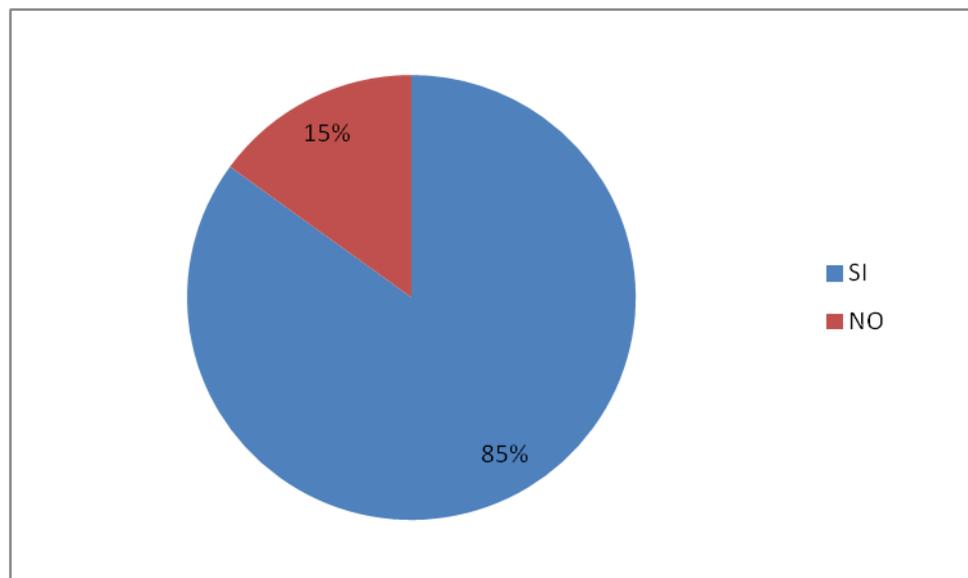


Gráfico No. 06 Pregunta 03

Fuente: Encuesta

Elaborado por: La investigadora

ANALISIS E INTERPRETACION.

Del total de encuestados se determina que 34 de ellos si saben que padecen de Síndrome de Intestino irritable es decir el 85%, en tanto que 6 de ellos contesta que No, esto representa el 15%, de la tabulación de datos se puede determinar que un porcentaje muy alto está consciente que padece de S.I.I.

Pregunta 4.- ¿Le han solicitado realizarse algún tipo de prueba de laboratorio para conocer si podría padecer de cáncer colorectal?

Tabla No. 11. Pregunta 04

Identificación	Frecuencia	% Acumulado
SI	40	100
NO	0	0

Fuente: Encuesta

Elaborado por: La investigadora

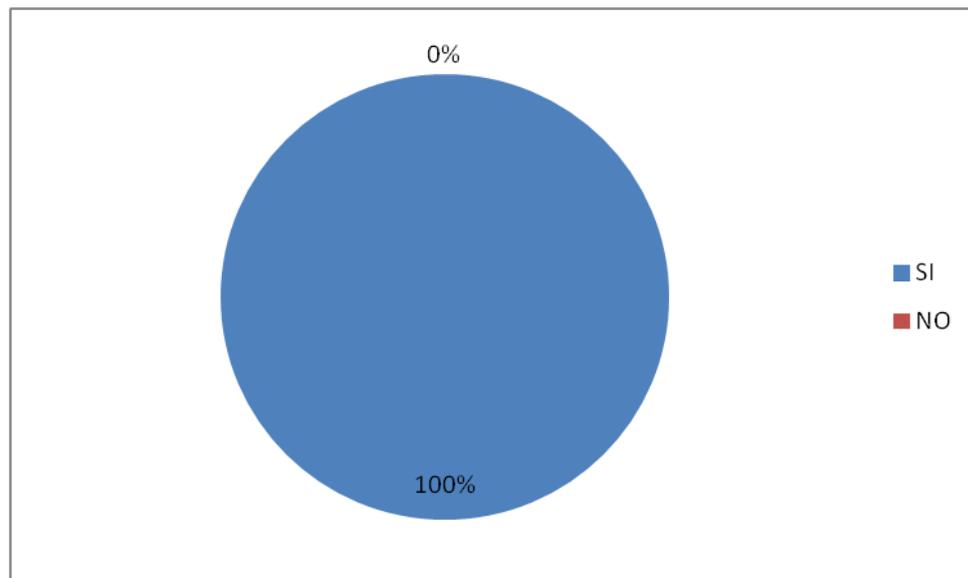


Gráfico No. 07. Pregunta 04

Fuente: Encuesta

Elaborado por: La investigadora

ANALISIS E INTERPRETACION.

De la población total encuestada 40 de ellos es decir al 100% si le han solicitado realizarse algún tipo de prueba de laboratorio para conocer si podría padecer de cáncer colorectal, esto mediante la acción del médico tratante, es decir de igual manera a todos los encuestados les han enviado a realizarse pruebas de algún tipo para conocer el diagnóstico preciso.

Pregunta 5.- ¿Tiene usted conocimiento si actualmente existen nuevas pruebas de laboratorio, para detectar cáncer colorectal que se estén realizando en los laboratorios?

Tabla No. 12. Pregunta 05

Identificación	Frecuencia	% Acumulado
SI	8	20
NO	32	80

Fuente: Encuesta

Elaborado por: La investigadora

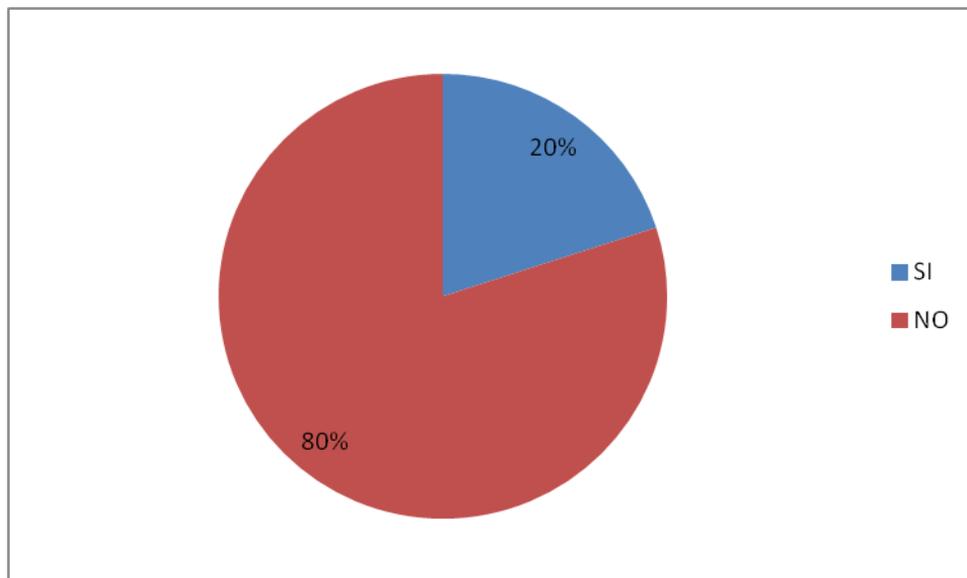


Gráfico No. 08. Pregunta 05

Fuente: Encuesta

Elaborado por: La investigadora

ANALISIS E INTERPRETACION.

De la población total encuestada 8 de ellos contestan que SI conocen que actualmente existen nuevas pruebas de laboratorio para detectar cáncer colorectal que se estén realizando en los laboratorios, pero de alguna manera no conocen el nombre concreto, esto implica un 20%, en tanto que 32 de encuestados responden no tener conocimiento de la existencia de nuevas pruebas.

Pregunta 6.- ¿Tiene usted conocimiento de la pruebas M2PK (Piruvato quinasa) y el Antígeno Carcino Embrionario para detección de cáncer colorectal que se están aplicando en los laboratorios?

Tabla No. 13. Pregunta 06

Identificación	Frecuencia	% Acumulado
SI	0	0
NO	40	100

Fuente: Encuesta

Elaborado por: La investigadora

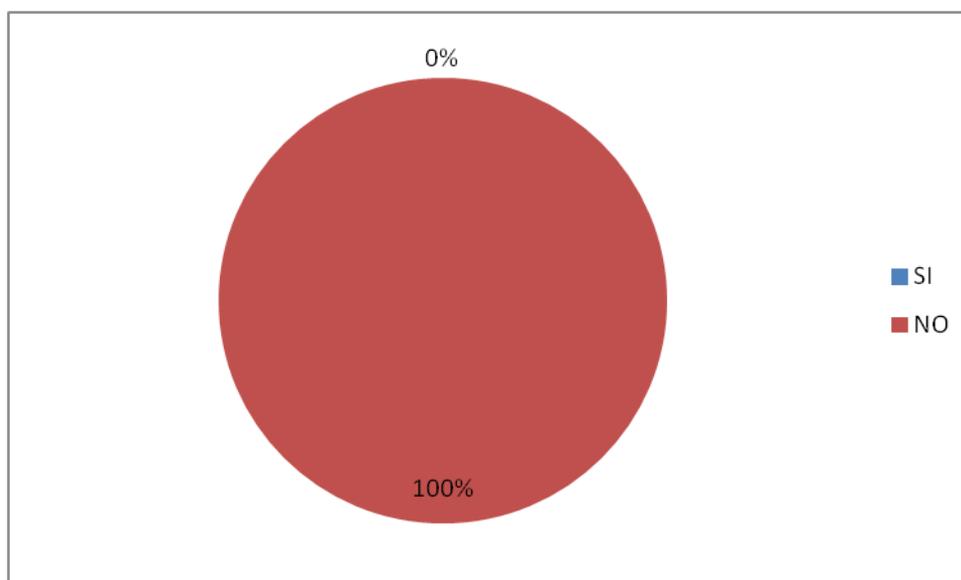


Gráfico No. 09. Pregunta 06

Fuente: Encuesta

Elaborado por: La investigadora

ANALISIS E INTERPRETACION

De la población total encuestada 40 de ellos es decir el 100% expresa NO tener conocimiento de la pruebas M2PK (Piruvato quinasa) y el Antígeno Carcino Embrionario para detección de cáncer colorectal, lo que significa que existe un total desconocimiento de este tipo de pruebas debido a que la solicitud de las pruebas las realiza el médico tratante y los pacientes solo se rigen a los resultados.

Pregunta 7.- ¿Estaría usted dispuesto a realizarse las pruebas de laboratorio M2PK y el Antígeno Carcino embrionario CEA?

Tabla No. 14. Pregunta 07

Identificación	Frecuencia	% Acumulado
SI	29	72
NO	11	28

Fuente: Encuesta

Elaborado por: La investigadora

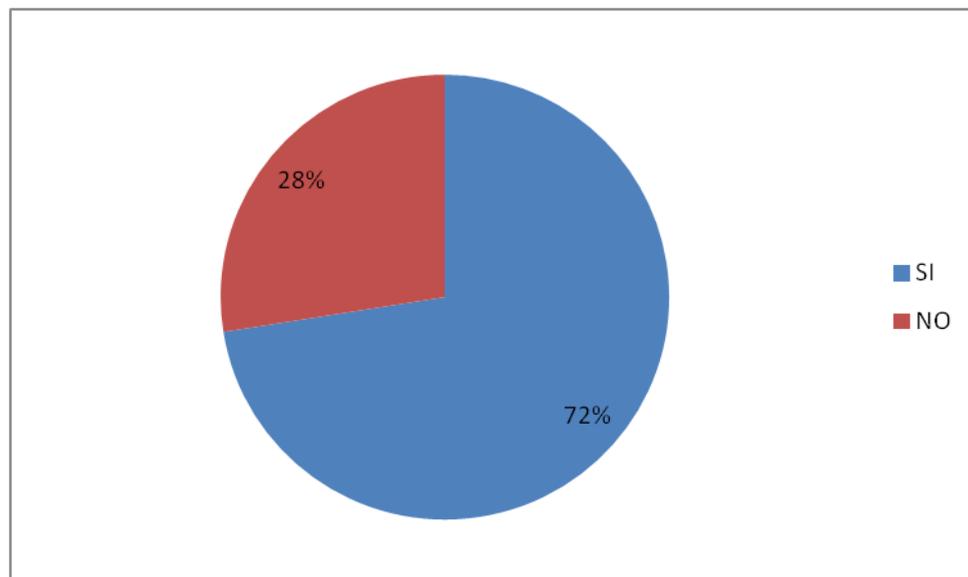


Gráfico No. 10. Pregunta 07

Fuente: Encuesta

Elaborado por: La investigadora

ANALISIS E INTERPRETACION

De la población total encuestada 29 de ellos expresa que SI estaría dispuesto a realizarse las pruebas de laboratorio M2PK y el CEA lo que implica el 72%, 11 encuestados No estaría dispuesto lo que corresponde al 28%, es decir existe una gran mayoría de pacientes que están dispuestos a realizarse esta prueba con el fin de conocer su diagnóstico.

Pregunta 8.- ¿Después de que se le ha explicado sobre la existencia de la prueba M2PK considera usted que la prueba de laboratorio M2PK (Piruvato Quinasa) y CEA le brindaría un buen nivel de efectividad en los resultados?

Tabla No. 15. Pregunta 08

Identificación	Frecuencia	% Acumulado
SI	28	70
NO	12	30

Fuente: Encuesta

Elaborado por: La investigadora

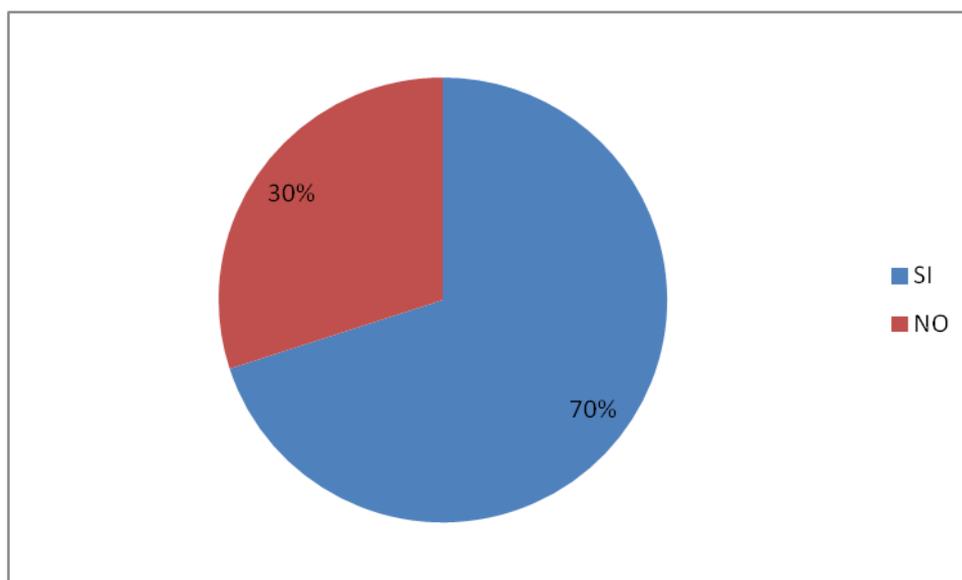


Gráfico No. 11. Pregunta 08

Fuente: Encuesta

Elaborado por: La investigadora

ANALISIS E INTERPRETACION.

De la población total encuestada 28 de ellos SI considera que la prueba M2PK (Piruvato Quinasa) por ser nueva le brindaría un buen nivel de efectividad en los resultados, esto corresponde al 70%, 12 encuestados contesta de manera negativa lo que implica un 30%, según este análisis se puede determinar que en la mayoría de los pacientes confía en la efectividad de la prueba.

Pregunta 9.- ¿Si su médico tratante le recomienda el realizarse la prueba de laboratorio M2PK (Piruvato Quinasa) para obtener un buen nivel de efectividad, estaría dispuesto a realizarse?

Tabla No. 16. Pregunta 09

Identificación	Frecuencia	% Acumulado
SI	27	67
NO	13	33

Fuente: Encuesta

Elaborado por: La investigadora

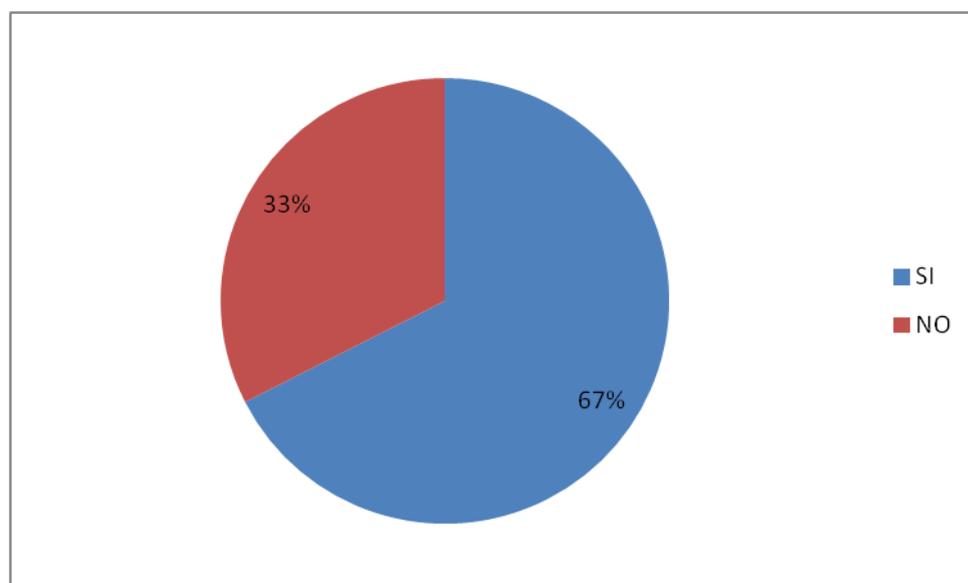


Gráfico No. 12. Pregunta 09

Fuente: Encuesta

Elaborado por: La investigadora

ANALISIS E INTERPRETACION.

De la población total encuestada 27 de ellos expresa que si el médico tratante le recomienda realizarse la prueba M2PK (Piruvato Quinasa) estaría dispuesto a realizársela para confirmar los resultados, esto implica un 67%, en tanto que 13 encuestados es decir el 33% contesta que NO se realizaría esta prueba, es decir denota desconfianza en los resultados.

Pregunta 10.- ¿De resultar efectiva las pruebas de laboratorio M2PK y CEA estaría usted dispuesto(a) recomendar a otros pacientes?

Tabla No. 17. Pregunta 10

Identificación	Frecuencia	% Acumulado
SI	31	77
NO	9	23

Fuente: Encuesta

Elaborado por: La investigadora

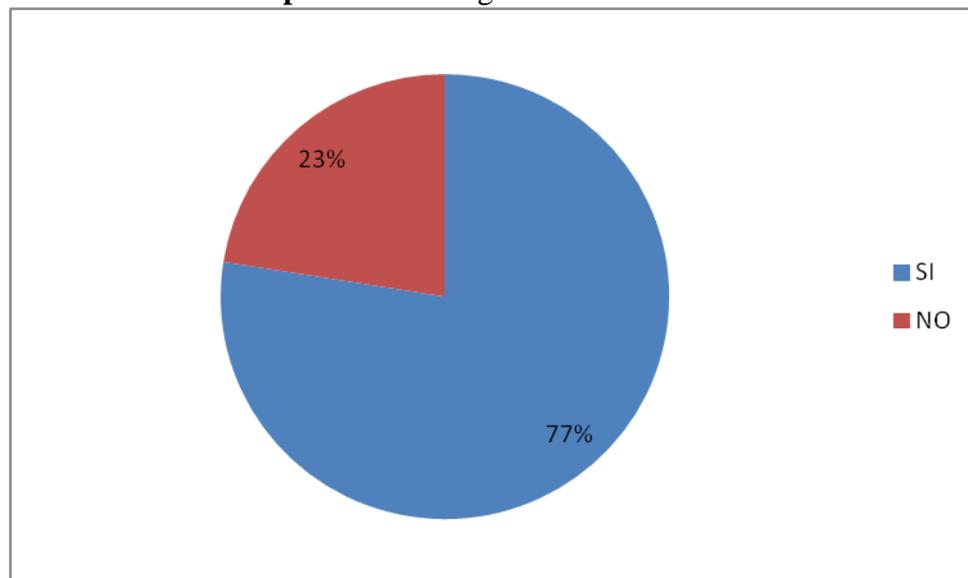


Gráfico No.13. Pregunta 10

Fuente: Encuesta

Elaborado por: La investigadora

ANALISIS E INTERPRETACION.

De la población total encuestada 31 encuestados expresa que SI, de resultar efectiva la prueba estaría dispuesta a recomendar a otros pacientes que realicen la pruebas, corresponde al 77%, 9 pacientes contestan que NO, es decir el 23%, por varios motivos o por no estar seguro de sus efectividades, lo que concuerda con que si existe un buen nivel de confianza en las prueba realizadas.

CONCLUSIONES FINALES

- Mediante el desarrollo del presente estudio se realizó las pruebas de los biomarcadores a 40 pacientes del Hospital Básico Pelileo citados para determinar los niveles de la Enzima Piruvato Quinasa en heces y el Antígeno Carcino Embrionario para el diagnóstico del Cáncer Colorrectal en las personas con Síndrome de Intestino Irritable, pero también se consideró aquellos que presentaban problemas de hemorroides, cáncer de colon, colitis ulcerosa y sangrado digestivo bajo, de acuerdo a los datos estadísticos derivados de la aplicación de las prueba se pueden determinar un alto nivel de eficiencia y seguridad en los resultados obtenidos
- Se realizó mediante el método de inmunoensayo cromatográfico la determinación de la enzima M2PK en los pacientes que presentan sintomatología gastrointestinal y el síndrome de intestino irritable ya que esta prueba detecta la presencia de tumores en lo cual se menciona que esta prueba supera la sensibilidad de la tradicional prueba de sangre oculta en heces.
- Se determinó el Antígeno Carcino Embrionario CEA mediante el método de ensayo ECLIA electroquimioluminiscencia en el Equipo Cobas e411 en 40 personas con SII, hemorroides, colitis ulcerosa y sangrado digestivo bajo, este método se basó en la técnica de sándwich con una duración total de 18 minutos ya que esta prueba es específica y se usa como un factor pronóstico de cáncer colorrectal.
- Se identificó dos casos de cáncer colorrectal en el cual se aplicó los dos métodos mediante la aplicación del Biomarcador M2PK (Piruvato quinasa) y el Antígeno Carcino Embrionario reflejando los resultados positivos con un elevado porcentaje de efectividad y ratificando los resultados que ya fueron obtenidos mediante el diagnóstico realizado por el médico.
- En relación entre la pruebas realizada se confirmó que los valores obtenidos de los Biomarcadores, la Enzima Pirubato Quinasa M2PK presenta una alta sensibilidad y especificidad ya que se pudo determinar la presencia de la enzima dando como positivo en 10 pacientes que presentan Síndrome de

Intestino Irritable como también en varias sintomatología , este nuevo biomarcador nos sirvió para la prevención de cáncer intestinal e indico la presencia de enfermedades en el aparato digestivo mientras que el Antígeno Carcino Embrionario CEA ayudo como una prueba confirmatoria para prevenir el cáncer Colorrectal.

- Con la aplicación del presente proyecto se pudo establecer un proceso investigativo hacia nuevos métodos actualizados y que establecen mejores niveles de efectividad por tanto es importante contar con un marcador específico como el M2PK de Alta Sensibilidad y Especificidad, cuya detección en sangre y/o materia fecal sea indicativo de la presencia del cáncer y/o de sus precursores en Etapa Temprana y curable. La prueba es sencilla y solo requiere de la toma de una muestra de materia fecal sin dieta previa, cuyo resultado es cualitativo indicando el nivel de riesgo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Registro Nacional de Tumores, SOLCA Quito. Hospital SOLCA Quito, 2016. (2)
2. Sociedad Estadounidense del Cáncer (American Cancer Society), Cáncer Facts & Figures (Datos y cifras de cáncer) 2016. (1)
3. SOLCA, Área de Estadística, Ambato, 2016, Inserto M2PK, 2017 (4)

LINKOGRAFÍA

4. AEGASTRO, Síndrome de Intestino Irritable, (2010) disponible en http://www.aegastro.es/sites/default/files/archivos/ayudasractivas/36_Sindrome_de_intestino_irritable.pdf (Citado el 23 de julio de 2017) (8)
5. CANCER.ORG, Cáncer colorrectal, (2012), disponible en: <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-colon-o-recto/acerca/que-es-cancer-de-colon-o-recto.html> (Citado el 05 de septiembre de 2017) (10).
6. CANCER.ORG, Detección temprana del cáncer colorrectal, (2015) disponible en <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-colon-o-recto/deteccion-diagnostico-clasificacion-por-etapas/como-se-diagnostica.html> (Citado el 21 de agosto de 2017), (11).
7. CANCER.GOB, Marcadores para detección de tumores, (2016) disponible en <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/diagnostico-estadificacion/diagnostico/hoja-informativa-marcadores-de-tumores> (Citado el 11 de julio de 2017), (12).
8. CIELO.ORG, Síndrome de intestino irritable (2005) disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid= (Citado el 17 de octubre de 2017) (9)
9. Diario El Universo Ecuador, Detectar a tiempo el cáncer colorrectal, (2017), disponible en: <http://www.eluniverso.com/vida/2017/05/28/nota/6202555/detectar-tiempo-cancer-colon> (Citado el 28 de agosto de 2017) (7)
10. Faecal pyruvate kinase isoenzyme type M2, (2012), disponible en: <http://www.wjgnet.com/1007-9327/pdf/V18/i30/4004.pdf> (Citado el 08 de junio de 2017), (14).
11. M2PK, (2016), disponible en: http://copro.com.ar/Tumor_M2-PK.html (Citado el 14 de Agosto de 2017), (13).

12. PANCAN.ORG, Aprender sobre el cáncer, (2016), disponible en: https://www.pancan.org/section_en_espanol/learn_about_pan_cancer/diagnosis/Carcinoembryonic_Antigen_b.php (Citado el 11 de septiembre de 2017), (16).

13. Sociedad Andaluza de Patología Digestiva, (2013), en https://www.sapd.es/revista/article.php?file=vol36_n1/01 (Citado el 12 de septiembre de 2017) (5)

14. Tumor M2-PK examen coprológico. (2013), disponible en www.gastrolabperu.com/examenes/m2-pk-fecal.html (Citado el 26 de agosto de 2017), (15).

15. UNIANDES, Tesis de Grado, disponible en: <http://dspace.uniandes.edu.ec/bitstream/123456789/3696/1/TUAMED022-2016.pdf> (Citado el 11 de agosto de 2017) (6).

16. Vive salud total, El cáncer en el Ecuador, disponible en: www.saludsapersonas.com/vivesaludtotal/index.php/cancer/el-cancer-en-el-ecuador/423-el-cancer-en-el-ecuador. (Citado el 14 de mayo de 2017). (3)

CITAS BIBLIOGRÁFICAS - BASE DE DATOS UTA:

17. SPRINGER: Kyle G., Cologne A. Development of Minimally Invasive Colorectal Surgery: History, Evidence, Learning Curve, and Current Adaptation. Rev. Advanced techniques in minimally invasive and robotic colorectal surgery. 2015 (Citado el 12 de septiembre del 2015); 10 (1):14–31.

Disponible en: <http://link.springer.com/book/10.1007/978-1-4899-7531-7>

18. SPRINGER: Paschall A., Liu K. Epigenetic and Immune Regulation of Colorectal Cancer Stem Cells. Curr. Colorectal Cancer Rep. 2015 (Citado el 10 de Agosto del 2015); 12 (2):1-

Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11888-015-0301-6#page-1>.

19. SPRINGER: Sung W., Koshy A., Grodzicki B. Metastatic Colon and Rectal Cancer: Role of Multidisciplinary Team-Based Management. Rev. Transdisciplinary Perioperative Care in Colorectal Surgery. 2015 (Citado el 15 de Septiembre del 2015); 16 (8):199–225.

Disponible en: <http://link.springer.com/book/10.1007/978-3-662-44020-9> 16.

20. SPRINGER: Thomas J., Allegra C. Yothers G. Neoadjuvant Rectal (NAR) Score: a New Surrogate Endpoint in Rectal Cancer Clinical Trials. *Curr. Colorectal Cancer Rep.* 2015 (Citado el 20 de septiembre del 2015); 11 (1):275–280.

Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11>.

ANEXOS

Anexo1

Encuesta aplicada

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Encuesta dirigida a pacientes con problemas gastrointestinales

OBJETIVO: Conocer el criterio de los pacientes diagnosticados con problemas gastrointestinales para la aplicación de pruebas de diagnóstico M2PK (Piruvato quinasa) y el Antígeno Carcino Embrionario para la detección de cáncer colorectal

Pregunta 1.- ¿Tiene usted actualmente algún problema de tipo gastrointestinal diagnosticado por un médico?

SI () NO ()

Pregunta 2.- ¿Se ha realizado últimamente algún tipo de prueba de laboratorio para detectar si tiene algún tipo de problema gastrointestinal?

SI () NO ()

Pregunta 3.- ¿Sabe usted si actualmente padece de Síndrome de Intestino irritable?

SI () NO ()

Pregunta 4.- ¿Le han solicitado realizarse algún tipo de prueba inespecífica de laboratorio para conocer si podría padecer de cáncer colorectal?

SI () NO ()

Pregunta 5.- ¿Tiene usted conocimiento si actualmente existen nuevas pruebas, para detectar cáncer colorectal que se estén realizando en los laboratorios?

SI () NO ()

Pregunta 6.- ¿Tiene usted conocimiento de la pruebas M2PK (Piruvato quinasa) y el Antígeno Carcino Embrionario para detección de cáncer colorectal que se están aplicando en los laboratorios?

SI () NO ()

Pregunta 7.- ¿Estaría usted dispuesto a realizarse las pruebas de laboratorio M2PK y el Antígeno Carcino embrionario CEA?

SI () NO ()

Pregunta 8.- ¿Después de que se le ha explicado sobre la existencia de la prueba M2PK considera usted que la prueba de laboratorio M2PK (Piruvato Quinasa) y CEA le brindaría un buen nivel de efectividad en los resultados?

SI () NO ()

Pregunta 9.- ¿Si su médico tratante le recomienda el realizarse la prueba de laboratorio M2PK (Piruvato Quinasa) para obtener un buen nivel de efectividad, estaría dispuesto a realizarse?

SI () NO ()

Pregunta 10.- ¿De resultar efectiva las pruebas de laboratorio M2PK y CEA estaría usted dispuesto(a) recomendar a otros pacientes?

SI () NO ()

Gracias por su colaboración

Anexo 2



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLINICO

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

TEMA:

DETERMINACIÓN DEL BIOMARCADOR ENZIMA PIRUVATO QUINASA (M2PK) EN HECES Y EL ANTÍGENO CARCINO EMBRIONARIO EN PACIENTES QUE PRESENTAN SINDROME DE INTESTINO IRRITABLE PARA CÁNCER COLORRECTAL

Investigador principal: Perez Llerena Glenda Maribel

Sede donde se realizará el estudio: Laboratorio Clínico Bacteriológico “MED-LAB” y Hospital básico ‘PELILEO’

Nombre del paciente / o del participante:

Fecha de la toma:

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido de que se trata el estudio tanto en sus beneficios, y procedimiento usted está en la libertad de aceptar o rechazar este estudio por lo cual se le pedirá que firme esta forma de consentimiento aceptando todo lo ya antes mencionado y se le dará a conocer oportunamente el resultado de dicho estudio.

Anexo3

Inserto M2PK

Patent granted in Europe and USA

ScheBo® • M2-PK Quick™

Stool test for colorectal cancer screening



Utilización

La prueba de heces ScheBo® • M2-PK Quick™ es una prueba rápida visual inmunocromatográfica para detectar la presencia de M2-PK en las muestras de heces. Se trata de un medio diagnóstico in vitro exclusivamente para uso profesional. La prueba sirve para la prevención del cáncer intestinal e indica la presencia de pólipos intestinales, cáncer intestinal y enfermedades inflamatorias intestinales agudas y crónicas, así como de otras enfermedades en el aparato digestivo.

El resultado del análisis no es falseado por los componentes de los alimentos, por lo que no es necesario seguir una dieta antes de tomar la muestra de heces. No se mide la presencia de sangre en las heces, sino la presencia de la enzima M2-PK (piruvato quinasa). La prueba detecta la presencia de tumores y pólipos intestinales sangrantes y no sangrantes y supera ampliamente la sensibilidad de la tradicional prueba de sangre oculta en heces.

Tabla: Comparación M2-PK y sangre oculta

	M2-PK*	Prueba de sangre oculta*
Sensibilidad ▼		
Cáncer intestinal	91 %	21 %
Pólipos > 1cm	60 %	20 %
Pólipos < 1cm	20 %	00 %
Especificidad ►	92 %	100 %

* Estudio comparativo: Kass, K.; Maxton, D.; Jankowski, J.A.Z.; (2007) Faecal dimeric M2 pyruvate kinase in colorectal cancer and polyps correlates with tumour staging and surgical intervention. Colorectal Disease 10: 244-248. M2-PK Quick™ cosearched a un 98% de

Principio del análisis

La piruvato quinasa es una enzima clave del metabolismo de la glucosa y existe en diferentes isoformas. En su forma activa está compuesta por cuatro subunidades iguales (tetrámero). En la formación tumoral se pierde la isoenzima tisular específica correspondiente y se produce la expresión de la isoenzima del tipo M2. Durante este proceso aumenta la concentración de M2-PK y la isoenzima inicialmente compuesta por cuatro subunidades se descompone en la forma menos activa compuesta por dos subunidades (dímero). Por lo general, la forma dímera de la M2-PK se puede detectar en grandes cantidades en las células tumorales.

La prueba de heces ScheBo® • M2-PK Quick™ se basa en un método inmunocromatográfico. La M2PK se detecta mediante dos anticuerpos monoclonales específicos. La M2-PK contenida en la muestra de heces reacciona con un anticuerpo monoclonal que está ligado a partículas de oro. Este complejo se distribuye en la membrana y alcanza la línea de análisis en la que se ha aplicado un segundo anticuerpo contra la M2-PK.

Si se produce un resultado positivo, el complejo anticuerpo-M2-PK marcado con oro es ligado en la línea de análisis (T) y se producirá una coloración rosa. Si se produce un resultado negativo, la muestra no contiene ningún complejo anticuerpo-M2-PK que se pueda unir en la línea de análisis (T). No aparecerá ninguna coloración. La línea de control (C) garantiza mediante su coloración rosa que tanto la aplicación y la migración de la muestra como el análisis se han realizado correctamente.

 **ScheBo • Biotech AG**
Netanyastrasse 3
35394 Gleßen
Germany

Almacenamiento y conservación

Análisis

La prueba se debe conservar hasta su utilización a una temperatura de entre +4°C y +27°C y, en caso necesario, calentar a temperatura ambiente justo antes de su uso.

Muestra de heces

La muestra de heces se debe guardar preferentemente en la nevera o a temperatura ambiente. Tras tomar la muestra de heces, ésta no se debe conservar durante más de 48 horas. El análisis deberá realizarse en el plazo de esas 48 horas o la muestra de heces deberá congelarse a -20°C para conservarla durante más tiempo. La muestra congelada se puede conservar hasta un año.

Factores que pueden alterar el resultado

Las heces muy acuosas pueden dar lugar a falsos negativos a causa del efecto de dilución.

 **Medio diagnóstico in vitro sólo para uso profesional.**

 **No reutilizable.**

- No utilizar el análisis después de la fecha de caducidad.
- No se deben utilizar reactivos procedentes de diferentes lotes.
- Abra el envase del análisis justo antes de realizar el análisis.
- El embalaje de aluminio de la caja de análisis no debe estar dañado.
- Por principio, considere todas las muestras de los pacientes como potencialmente infecciosas y, por consiguiente, utilice guantes desechables durante la realización del análisis y elimine el análisis y el extracto de la muestra de la forma adecuada.



Realización del análisis



4. Introduzca la punta dosificadora blanca con la muestra de heces a través del cono azul en el sistema de extracción y gire la punta dosificadora hacia la derecha para cerrarla.



5. Agítelo bien o golpéelo hasta que se suelten las heces de todos los pocillos de la punta dosificadora.



6. Déjelo reposar 10 minutos.



7. Para finalizar, agítelo una vez más. Atención: ¡ya no debe haber heces colgando de la punta dosificadora blanca! Si las heces todavía no se han soltado de la punta, puede dejar reposar el sistema de extracción hasta una hora para soltar las heces agitándolo repetidas veces.



8. Rasgue el embalaje de aluminio de la caja de análisis y extraiga la caja.



9. Extraiga con la pipeta un extracto de la muestra de heces del sistema de extracción.



10. Deje caer con la pipeta cuatro gotas del extracto de la muestra de heces en la ventana de muestra redonda de la caja.



11. Espere exactamente cinco minutos y lea el resultado. Las lecturas posteriores pueden dar falsos positivos.



ScheBö • Biotech AG

Evaluación de los resultados de la prueba

Control de calidad: La prueba incluye un control de procedimiento. Una línea rosa que se forma en la zona de control (C) indica que la prueba se ha realizado correctamente.

Negativo En la zona de control (C) aparecerá una línea rosa. Ninguna línea en la zona de análisis (T).



Positivo Dos líneas de color rosa. Una en la zona de control (C) y otra en la zona de análisis (T). La línea en la zona de análisis (T) se debe poder identificar claramente como línea, pero puede ser más débil que la línea en la zona de control (C).



No válido Si no aparece ninguna línea rosa, el análisis no ha funcionado.



 ScheBó • Biotech AG

Netanyastrasse 3
35394 Gleßen
Germany
Phone +49 641 499 60
www.diamitebtest.de
www.schebo.de

Campo de aplicación e interpretación de la prueba

La prueba sirve para determinar la presencia de M2-PK en las muestras de heces. Se obtendrá un resultado positivo si la muestra presenta una concentración aumentada de M2-PK.

Resultado de prueba negativo

En el momento de la realización de la prueba no se ha podido determinar la presencia de un valor aumentado de M2-PK en las heces. Si la prueba da un resultado negativo pero el paciente presenta síntomas de enfermedad (como p. ej. dolor hipogástrico frecuente, defecación irregular, pérdida de peso y depósitos visibles de sangre en las heces) se deberán solicitar en cualquier caso exámenes adicionales para aclarar la situación. La prueba no sustituye a la colonoscopia.

Resultado de prueba positivo

En el momento de la realización de la prueba se ha podido determinar la presencia de un valor aumentado de M2-PK en las heces. Un valor aumentado de M2-PK en las heces puede ser un indicador de pólipos intestinales o de cáncer intestinal. Un aumento de los valores también se puede producir en el caso de patologías intestinales inflamatorias agudas o crónicas, así como en el caso de otras enfermedades del aparato digestivo. Siempre se deberán realizar otras exploraciones adecuadas (p. ej. colonoscopia, gastroscopia, TC o ultrasonidos) para confirmar el resultado patológico o una sospecha clínica existente de cáncer o de estados previos de éste. La prueba no sustituye a la colonoscopia.

Rendimiento

La prueba rápida M2-PK tiene una sensibilidad del 98% y una especificidad del 93% (en comparación con M2-PK ELISA).



Anexo 4

Inserto C.E.A

ms_1179162902V23.0

CEA

Antígeno carcinoembrionario

cobas[®]

REF	Σ	SYSTEM
11731629 322	100	Eleclys 2010 MODULAR ANALYTICS E170 cobas e 411 cobas e 601 cobas e 602

Español

Advertencia

El valor de CEA de una muestra de paciente puede variar según el método de ensayo aplicado. Por tanto, el laboratorio debe indicar el método de determinación de CEA empleado. Los valores de CEA de un paciente, obtenidos mediante diferentes procedimientos de test, no pueden compararse entre sí y dan lugar a interpretaciones erróneas por parte del médico. En caso de cambiar el método de determinación de CEA durante el control del tratamiento, los valores del mismo deben confirmarse en el periodo de transición mediante mediciones paralelas de ambos métodos.

Uso previsto

Test inmunológico in vitro para la determinación cuantitativa del antígeno carcinoembrionario en suero y plasma humanos. Se aplica además en mediciones en serie de CEA como auxiliar en el tratamiento de pacientes de cáncer.

Este inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (electrochemiluminescence immunoassay) "ECLIA" está concebido para su empleo en los analizadores automáticos Eleclys y cobas e.

Características

El antígeno carcinoembrionario es una glicoproteína monómera con un peso molecular de aproximadamente 180000 daltons cuyo contenido en carbohidratos varía aproximadamente entre el 45 % y 60 %.¹

El CEA, al igual que la AFP, pertenece al grupo de los antígenos carcinoembrionales que se producen durante el periodo embrionario y fetal. La familia genética del CEA consiste en unos 17 genes activos que se dividen en dos subgrupos.² El CEA pertenece al primer grupo junto con los antígenos no específicos de reacción cruzada (Non-specific Cross-reacting Antigens = NCA): el segundo grupo está formado por las glicoproteínas

Antigens = NCA); el segundo grupo está formado por las glicoproteínas específicas del embarazo (Pregnancy-Specific Glycoproteins = PSG).

La mayor concentración de CEA se observa en el tracto gastrointestinal fetal y en suero fetal, así como también, aunque en cantidades mínimas, en el tejido intestinal, pancreático y hepático de adultos sanos. La formación de CEA se reduce tras el nacimiento de modo que en el suero de adultos sanos se encuentra en cantidades apenas medibles.

En caso de adenocarcinoma colorrectal se miden altas concentraciones de CEA.³ Los valores de CEA aumentan de forma leve a moderada (raramente > 10 ng/mL) en el 20 % al 50 % de enfermedades benignas del intestino, el páncreas y los pulmones (p. ej. en la cirrosis hepática, la hepatitis crónica, la pancreatitis, la colitis ulcerosa, la enfermedad de Crohn y el enfisema).⁴ En fumadores se registran valores elevados de CEA.

La determinación de CEA sirve principalmente para controlar el curso y tratamiento del carcinoma colorrectal.

No se recomienda emplear la determinación de CEA para el cribado sistemático de tumores en la población general. Aunque los valores de CEA se hallan dentro del intervalo de referencia, no puede excluirse la presencia de una enfermedad maligna.

Los anticuerpos reaccionan con el CEA y -como sucede en casi todos los métodos de determinación del CEA- con el antígeno del meconio (NCA2).⁵ La reactividad cruzada con el NCA1 es de 0.7 %.

Se han caracterizado los epitopos reactivos del CEA, dividiéndose los anticuerpos monoclonales disponibles en 6 grupos de epitopos.^{6,7} Los anticuerpos del test Eleclys CEA reaccionan con los epitopos 2 y 5.

Principio del test

Técnica sándwich con una duración total de 18 minutos.

- 1.ª incubación: 10 µL de muestra, un anticuerpo monoclonal biotinilado anti-CEA y un anticuerpo monoclonal anti-CEA marcado con quelato de rutenio²⁺ forman un complejo sándwich.
- 2.ª incubación: después de incorporar las micropartículas recubiertas de estreptavidina, el complejo formado se fija a la fase sólida por interacción entre la biotina y la estreptavidina.
- La mezcla de reacción es trasladada a la célula de medida donde, por magnetismo, las micropartículas se fijan a la superficie del electrodo. Los elementos no fijados se eliminan posteriormente con ProCell/ProCell M. Al aplicar una corriente eléctrica definida se produce una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se mide con un fotomultiplicador.
- Los resultados se obtienen mediante una curva de calibración generada por el sistema a partir de una calibración a 2 puntos y una curva máster incluida en el código de barras del reactivo.

a) Quelato Tris (2,2'-bipiridina)rutenio(II) (Ru(bpy)₃²⁺)

Reactivos - Soluciones de trabajo

El pack de reactivos está etiquetado como CEA.

- M** Micropartículas recubiertas de estreptavidina (tapa transparente), 1 frasco, 8 mL:
Micropartículas recubiertas de estreptavidina: 0.72 mg/mL; conservante.
- R1** Anticuerpo anti-CEA-biotina (tapa gris), 1 frasco, 10 mL:
Anticuerpo monoclonal biotinilado anti-CEA (ratón/humano) 3.0 mg/L, tampón fosfato 100 mmol/L, pH 6.0; conservante.
- R2** Anticuerpo anti-CEA-Ru(bpy)₃²⁺ (tapa negra), 1 frasco, 8 mL:
Anticuerpo monoclonal anti-CEA (ratón) marcado con quelato de rutenio 4.0 mg/L; tampón fosfato 100 mmol/L, pH 6.5; conservante.

Medidas de precaución y advertencias

Producto sanitario para diagnóstico in vitro.

Observe las medidas de precaución habituales para la manipulación de reactivos.

Elimine los residuos según las normas locales vigentes.

Ficha de datos de seguridad a la disposición del usuario profesional que la solicite.

Evite la formación de espuma en reactivos y muestras de todo tipo (especímenes, calibradores y controles).

Preparación de los reactivos

Los reactivos incluidos en el estuche están listos para el uso y forman una unidad inseparable.

La información necesaria para el correcto funcionamiento se introduce en el analizador a través de los códigos de barras de los reactivos.

Conservación y estabilidad

Conservar a 2-8 °C.

No congelar.

Conservar el estuche de reactivos Eleclys en posición vertical para garantizar la disponibilidad total de las micropartículas durante la mezcla automática antes del uso.

Estabilidad:	
sin abrir, a 2-8 °C	hasta la fecha de caducidad indicada
una vez abierto, a 2-8 °C	12 semanas

Estabilidad:	
en los analizadores Elecsys 2010, MODULAR ANALYTICS E170, cobas e 411 y cobas e 601	6 semanas
en los analizadores cobas e 602	4 semanas

Obtención y preparación de las muestras

Sólo se ha analizado y considerado apto el tipo de muestras aquí indicado. Suero recogido en tubos estándar de muestra o en tubos que contienen gel de separación.

Plasma tratado con heparina de litio, heparina de sodio, EDTA tripotásico y citrato sódico. Si se emplea citrato sódico como anticoagulante, corregir los resultados en + 10 %.

Criterio: Recuperación dentro de 90-110 % del valor sérico o bien, la pendiente 0.9-1.1 + intersección dentro de $\pm 2x$ de la sensibilidad analítica (LID) + coeficiente de correlación > 0.95.

Estabilidad: 7 días a 2-8 °C, 6 meses a -20 °C.⁸

Los tipos de muestra aquí indicados fueron analizados con tubos de recogida de muestras seleccionados, comercializados en el momento de efectuar el análisis, lo cual significa que no fueron analizados todos los tubos de todos los fabricantes. Los sistemas de recogida de muestras de diversos fabricantes pueden contener diferentes materiales que, en ciertos casos, pueden llegar a afectar los resultados de los análisis. Si las muestras se procesan en tubos primarios (sistemas de recogida de muestras), seguir las instrucciones del fabricante de tubos.

Centrifugar las muestras que contienen precipitado antes de realizar el ensayo.

No emplear muestras inactivadas por calor.

No utilizar muestras ni controles estabilizados con azida.

Se debe garantizar una temperatura de 20-25 °C para la medición de muestras, calibradores y controles.

Para evitar posibles efectos de evaporación, determinar las muestras, los calibradores y los controles que se sitúan en los analizadores dentro de un lapso de 2 horas.

Material suministrado

Consultar la sección "Reactivos - Soluciones de trabajo" en cuanto a los reactivos suministrados.

Material requerido adicionalmente (no suministrado)

Material suministrado

Consultar la sección "Reactivos - Soluciones de trabajo" en cuanto a los reactivos suministrados.

Material requerido adicionalmente (no suministrado)

- REF 11731645322, CEA CalSet, 4 x 1 mL
 - REF 11776452122, PreciControl Tumor Marker, para 2 x 3 mL de PreciControl Tumor Marker 1 y 2 c/u o bien REF 11731416190, PreciControl Universal, para 2 x 3 mL de PreciControl Universal 1 y 2 c/u
 - REF 11732277122, Diluent Universal, 2 x 16 mL de diluyente de muestras o REF 03183971122, Diluent Universal, 2 x 36 mL de diluyente de muestras
 - Equipo usual de laboratorio
 - Analizadores Elecsys 2010, MODULAR ANALYTICS E170 o cobas e
- Material adicional para los analizadores Elecsys 2010 y cobas e 411:
- REF 11662988122, ProCell, 6 x 380 mL de tampón del sistema
 - REF 11662970122, CleanCell, 6 x 380 mL de solución detergente para la célula de lectura
 - REF 11930346122, Elecsys SysWash, 1 x 500 mL de aditivo para el agua de lavado
 - REF 11933159001, adaptador para SysClean
 - REF 11706802001, Elecsys 2010 AssayCup, 60 x 60 tubos de ensayo
 - REF 11706799001, Elecsys 2010 AssayTip, 30 x 120 puntas de pipeta
- Material adicional para los analizadores MODULAR ANALYTICS E170, cobas e 601 y cobas e 602:
- REF 04880340190, ProCell M, 2 x 2 L de tampón del sistema
 - REF 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L de solución detergente para la célula de lectura

- REF 03023141001, PC/CC-Cups, 12 recipientes para atemperar las soluciones ProCell M y CleanCell M antes de usar
 - REF 03005712190, ProbeWash M, 12 x 70 mL de solución detergente para finalizar el procesamiento y enjuagar tras cambiar de reactivos
 - REF 12102137001, AssayTip/AssayCup Combimagazine M, 48 cargadores con 84 tubos de ensayo o puntas de pipeta, bolsas de residuos
 - REF 03023150001, WasteLiner, bolsas de residuos
 - REF 03027651001, SysClean Adapter M
- Material adicional para todos los analizadores:
- REF 11298500316, Elecsys SysClean, 5 x 100 mL de solución detergente del sistema

Realización del test

Para garantizar el funcionamiento óptimo del test, observe las instrucciones de la presente metodología referentes al analizador empleado. Consulte el manual del operador apropiado para obtener las instrucciones de ensayo específicas del analizador.

Las microparticulas se mezclan automáticamente antes del uso. Los parámetros de test se introducen a través de los códigos de barras impresos en el reactivo. Pero si, excepcionalmente, el analizador no pudiera leer el código de barras, el código numérico de 15 cifras deberá introducirse manualmente.

Antes del uso, atemperar los reactivos refrigerados a aproximadamente 20 °C y colocarlos en el rotor de reactivos (20 °C) del analizador. Evitar la formación de espuma. El analizador realiza automáticamente los procesos de atemperar, abrir y tapar los frascos.

Calibración

Trazabilidad: El presente método ha sido estandarizado frente al primer estándar de referencia IRP 73/601 de la OMS.

Cada reactivo Elecsys contiene un código de barras que incluye información específica para la calibración del lote de reactivos. La curva máster predefinida es adaptada al analizador a través del CalSet correspondiente.

Intervalo de calibraciones: Efectuar una calibración por lote con reactivo fresco (registrado como máximo 24 horas antes en el analizador). Se recomienda repetir la calibración:

- tras 1 mes (28 días) si se trata del mismo lote de reactivos
- tras 7 días (al emplear el mismo estuche de reactivos en el analizador)

Intervalo de calibraciones: Efectuar una calibración por lote con reactivo fresco (registrado como máximo 24 horas antes en el analizador). Se recomienda repetir la calibración:

- tras 1 mes (28 días) si se trata del mismo lote de reactivos
- tras 7 días (al emplear el mismo estuche de reactivos en el analizador)
- en caso necesario: p. ej. si el control de calidad se encuentra fuera del intervalo definido

Control de calidad

Para el control de calidad, emplear PreciControl Tumor Marker o PreciControl Universal.

Adicionalmente pueden emplearse otros controles apropiados.

Los controles de los diferentes intervalos de concentración deberían efectuarse junto con el test en determinaciones simples por lo menos 1 vez cada 24 horas, con cada estuche de reactivos y después de cada calibración.

Adaptar los intervalos y límites de control a los requisitos individuales del laboratorio. Los resultados obtenidos deben hallarse dentro de los límites definidos. Cada laboratorio debería establecer medidas correctivas a seguir en caso de obtener valores fuera del intervalo definido.

Cumplir con las regulaciones gubernamentales y las normas locales de control de calidad pertinentes.

Cálculo

El analizador calcula automáticamente la concentración de analito de cada muestra (en ng/mL o µg/L).

1 ng/mL de CEA corresponde a 16.9 mU/mL.

Limitaciones del análisis - interferencias

El test no se ve afectado por ictericia (bilirrubina < 1129 µmol/L ó < 66 mg/dL), hemólisis (Hb < 1.4 mmol/L ó < 2.2 g/dL), lipemia (Intralipid < 1500 mg/dL), ni biotina (< 491 nmol/L ó < 120 ng/mL).

Criterio: Recuperación dentro de ± 10 % del valor inicial.

CEA**Antígeno carcinoembrionario**

En pacientes en tratamiento con altas dosis de biotina (> 5 mg/día), no recoger la muestra antes de transcurridas como mínimo 8 horas tras la última administración.

No se han observado interferencias por factores reumatoides hasta una concentración de 1500 UI/mL.

No se ha registrado el efecto prozona (high dose hook) con concentraciones de CEA de hasta 200000 ng/mL.

Se analizaron in vitro 26 fármacos de uso extendido sin encontrar interferencias.

En casos aislados pueden presentarse interferencias por títulos extremadamente altos de anticuerpos dirigidos contra anticuerpos específicos del analito, la estreptavidina o el rutenio. Estos efectos se han minimizado gracias a un adecuado diseño del test.

Para el diagnóstico, los resultados del test siempre deben interpretarse teniendo en cuenta la anamnesis del paciente, el análisis clínico así como los resultados de otros exámenes.

Límites e intervalos**Intervalo de medición**

0,200-1000 ng/mL (definido por el límite de detección y el máximo de la curva máster). Los valores inferiores al límite de detección inferior se indican como < 0,200 ng/mL. Los valores superiores al intervalo de medición se indican como > 1000 ng/mL o bien diluidos por el factor 50 respectivamente hasta 50000 ng/mL.

Límites inferiores de medición**Límite inferior de detección del test**

Límite inferior de detección: 0,20 ng/mL

El límite de detección inferior equivale a la menor concentración medible de analito que puede distinguirse de cero. Se calcula como la concentración situada a 2 desviaciones estándar por encima del estándar más bajo (calibrador máster, estándar 1 + 2 DE, estudio de repetibilidad, n = 21).

Dilución

Las muestras con concentraciones de CEA superiores al intervalo de medición pueden diluirse con Diluent Universal. Se recomienda una dilución de 1:50 (automáticamente por los analizadores MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010, cobas e o bien de forma manual). La concentración de la muestra diluida debe superar los 20 ng/mL.

Multiplicar los resultados obtenidos tras dilución manual por el factor de dilución.

El software de los analizadores MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 y cobas e tiene en cuenta la dilución automática al calcular la concentración de las muestras.

Valores teóricos**cobas®**

Analizadores Elecsys 2010 y cobas e 411					
Muestra	Media ng/mL	Repetibilidad		Precisión intermedia	
		DE ng/mL	CV %	DE ng/mL	CV %
Suero humano 1	2,2	0,11	5,0	0,12	5,4
Suero humano 2	19,6	0,32	1,6	0,44	2,3
Suero humano 3	528	6,82	1,3	10,6	2,0
PreciControl TM ¹⁾	4,9	0,12	2,5	0,18	3,6
PreciControl TM2	34,1	0,58	1,7	1,02	3,0

1) TM = Tumor Marker

Analizadores MODULAR ANALYTICS E170, cobas e 601 y cobas e 602						
Muestra	Repetibilidad			Precisión intermedia		
	Media ng/mL	DE ng/mL	CV %	Media ng/mL	DE ng/mL	CV %
Suero humano 1	3,32	0,05	1,3	3,90	0,18	4,7
Suero humano 2	225	2,53	1,0	252	11,6	4,6
Suero humano 3	626	11,8	1,9	699	34,8	5,0
PreciControl TM1	4,38	0,10	2,5	4,74	0,24	5,1
PreciControl TM2	33,8	0,73	2,0	34,9	1,71	4,9

Comparación de métodos

Una comparación del método Elecsys CEA (y) con el Enzymun-Test CEA (x) basada en muestras clínicas ha dado las siguientes correlaciones:

Número de muestras medidas: 108

Passing/Bablok²⁾

$$y = 0,91x + 0,06$$

$$r = 0,913$$

Regresión lineal

$$y = 0,90x + 0,04$$

$$r = 0,992$$

Las concentraciones de las muestras se situaron entre aprox. 0,7 ng/mL y 52 ng/mL.

Especificidad analítica

Para los anticuerpos monoclonales empleados se han obtenido las siguientes reacciones cruzadas:

NCA1 < 0,7 %, NCA2 72 %.

mc_1173162932V23.0

CEA

Antígeno carcinoembrionario

- 8 Guder WG, Narayanan S, Wisser H, et al. List of Analytes; Pre-analytical Variables. Brochure in: Samples: From the Patient to the Laboratory. GIT-Verlag, Darmstadt 1996:10. ISBN 3-928865-22-6.
- 9 Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.

Para más información acerca de los componentes, consultar el manual del operador del analizador, las hojas de aplicación, la información de producto y las metodicas correspondientes (disponibles en su país).

En la presente metódica se emplea como separador decimal un punto para distinguir la parte entera de la parte fraccionaria de un número decimal. No se utilizan separadores de millares.

Símbolos

Roche Diagnostics emplea los siguientes símbolos y signos adicionalmente a los indicados en la norma ISO 15223-1.

CONTENT	Contenido del estuche
SYSTEM	Analizadores/instrumentos adecuados para los reactivos
REAGENT	Reactivo
CALBRATOR	Calibrador
	Volumen tras reconstitución o mezcla

La barra del margen indica cambios o suplementos significativos.

© 2013, Roche Diagnostics



 Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com

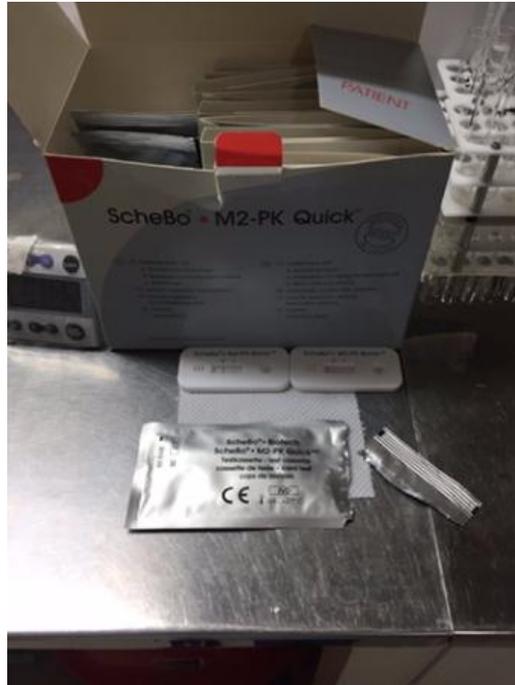


cobas®

Anexo 5.

Fotografías

F1. Presentación comercial de la prueba



F2. Toma de muestras





F3. Apertura de la prueba



F4. Ubicación por paciente

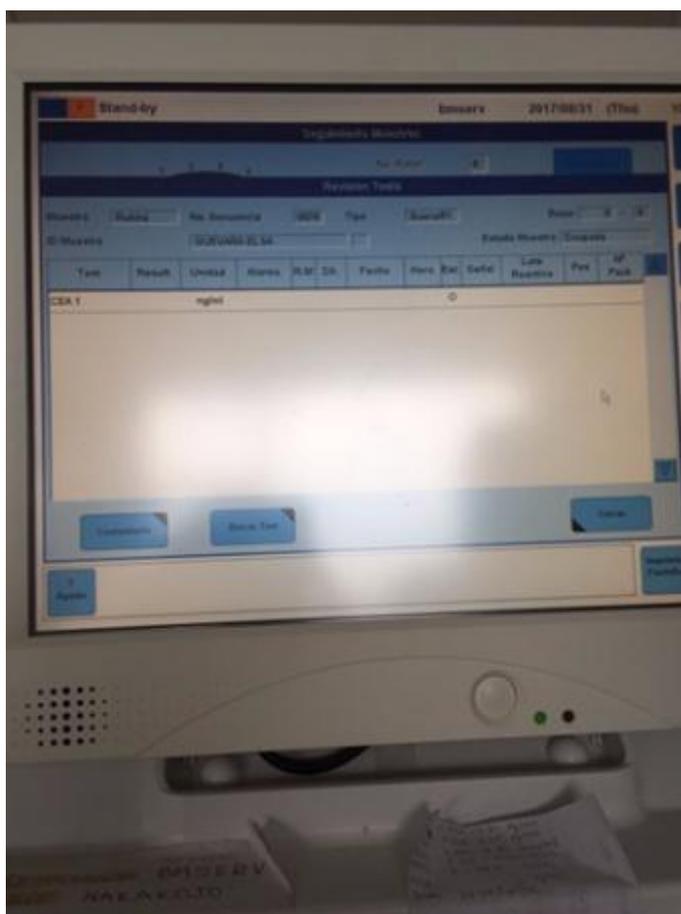


F5. Realización de la prueba





F6. Análisis de resultados





Anexo 6

ESTADISTICA DE LA APLICACIÓN DE LA PRUEBAS DE LABORATORIO

PACIENTE:	001 BQLF		PACIENTE:	008 CMZI
EDAD:	49		EDAD:	63
DIAGNÓSTICO :	Colitis ulcerosa		DIAGNÓSTICO:	S.I.I
PRUEBA M2PK:	Positivo		PRUEBA M2PK:	Negativo
CEA:	1.17mg-ml		CEA:	0.718 mg-ml
PACIENTE:	002 CLWB		PACIENTE:	12BLLRE
EDAD:	49		EDAD:	63
DIAGNÓSTICO :	Hemorroides internas		DIAGNÓSTICO:	S.I.I
PRUEBA M2PK:	Negativo		PRUEBA M2PK:	Negativo
CEA:	0.20 mg-ml		CEA:	0.52mg-ml
PACIENTE:	003 CMRD		PACIENTE:	13VACM
EDAD:	41		EDAD:	67
DIAGNÓSTICO :	Sangrado digestivo bajo		DIAGNÓSTICO:	S.I.I
PRUEBA M2PK:	Positivo		PRUEBA M2PK:	positivo
CEA:	0.20 mg-ml		CEA:	1.78 mg-ml
PACIENTE:	004 MCMB		PACIENTE:	14BRLA
EDAD:	62		EDAD:	31
DIAGNÓSTICO :	Hemorroides internas		DIAGNÓSTICO :	S.I.I
PRUEBA M2PK:	Negativo		PRUEBA M2PK:	NEGATIVO
CEA:	1.85mg-ml		CEA:	0.35 mg-ml
PACIENTE:	005 CTMD		PACIENTE:	15QAMM
EDAD:	67		EDAD:	57

DIAGNÓSTICO	Cáncer de colon		DIAGNÓSTICO	S.I.I
PRUEBA M2PK:	Positivo		PRUEBA M2PK:	POSITIVO
CEA:	24.03 mg-ml		CEA:	1.25 mg-ml
PACIENTE:	006 MPH M		PACIENTE:	16LLPNJ
EDAD:	71		EDAD:	43
DIAGNÓSTICO	Cáncer de colon		DIAGNÓSTICO	S.I.I
PRUEBA M2PK:	Positivo		PRUEBA M2PK:	NEGATIVO
CEA:	4.06mg-ml		CEA:	0.38 mg-ml
PACIENTE:	007 VPRF		PACIENTE:	17 JCLP
EDAD:	26		EDAD:	45
DIAGNÓSTICO	S.I.I		DIAGNÓSTICO	S.I.I
PRUEBA M2PK:	Negativo		PRUEBA M2PK:	Negativa
CEA:	0.45 mg-ml		CEA:	1.25mg-ml
PACIENTE:	009 CMMC		PACIENTE:	18CMCH
EDAD:	45		EDAD:	71
DIAGNÓSTICO	S.I.I		DIAGNÓSTICO	S.I.I
PRUEBA M2PK:	Negativo		PRUEBA M2PK:	Positivo
CEA:	1.34 mg-ml		CEA:	0.75mg-ml
PACIENTE:	10 GM EP		PACIENTE:	19MMVJ
EDAD:	56		EDAD:	36
DIAGNÓSTICO	S.I.I		DIAGNÓSTICO	S.I.I
PRUEBA M2PK:	Positivo		PRUEBA M2PK:	Negativo
CEA:	2.95mg-ml		CEA:	0.29mg-ml
PACIENTE:	11 LLAFV		PACIENTE:	20JUEF
EDAD:	41		EDAD:	55

DIAGNÓSTICO	S.I.I		DIAGNÓSTICO	S.I.I
PRUEBA M2PK:	Negativo		PRUEBA M2PK:	Positivo
CEA:	0.52mg-ml		CEA:	2.00mg-ml

PACIENTE:	21LLPRC		PACIENTE:	31LLMGN
EDAD:	59		EDAD:	54
DIAGNÓSTICO	S.I.I		DIAGNÓSTICO	S.I.I
PRUEBA M2PK:	Negativo		PRUEBA M2PK:	Negativo
CEA:	0.49mg-ml		CEA:	0.69mg-ml

PACIENTE:	22RMJC		PACIENTE:	32COMC
EDAD:	50		EDAD:	65
DIAGNÓSTICO	S.I.I		DIAGNÓSTICO	S.I.I
PRUEBA M2PK:	Negativo		PRUEBA M2PK:	Negativo
CEA:	1.48mg-ml		CEA:	0.28mg-ml

PACIENTE:	23CMCH		PACIENTE:	33GRMT
EDAD:	71		EDAD:	72
DIAGNÓSTICO	S.I.I		DIAGNÓSTICO	S.I.I
PRUEBA M2PK:	Negativo		PRUEBA M2PK:	Negativo
CEA:	0.67mg-ml		CEA:	0.78mg-ml

PACIENTE:	24PVCA		PACIENTE:	34RLLIV
EDAD:	75		EDAD:	40
DIAGNÓSTICO	S.I.I		DIAGNÓSTICO	S.I.I
PRUEBA M2PK:	Negativo		PRUEBA M2PK:	Negativo
CEA:	0.29mg-ml		CEA:	0.39mg-ml

PACIENTE:	25RVLR		PACIENTE:	35PCDF
EDAD:	30		EDAD:	38
DIAGNÓSTICO	S.I.I		DIAGNÓSTICO	S.I.I
PRUEBA	Negativo		PRUEBA	Negativo

M2PK:			M2PK:	
CEA:	0.25mg-ml		CEA:	0.249mg-ml
PACIENTE:	26RMCA		PACIENTE:	36NGHG
EDAD:	75		EDAD:	23
DIAGNÓSTICO:	S.I.I		DIAGNÓSTICO:	S.I.I
PRUEBA M2PK:	Negativo		PRUEBA M2PK:	Negativo
CEA:	0.25mg-ml		CEA:	1.70mg-ml
PACIENTE:	27RRAA		PACIENTE:	37PSZO
EDAD:	57		EDAD:	48
DIAGNÓSTICO:	S.I.I		DIAGNÓSTICO:	S.I.I
PRUEBA M2PK:	Negativo		PRUEBA M2PK:	Negativo
CEA:	0.78mg-ml		CEA:	0.58mg-ml
PACIENTE:	28SMSD		PACIENTE:	38MEGM
EDAD:	65		EDAD:	41
DIAGNÓSTICO:	S.I.I		DIAGNÓSTICO:	S.I.I
PRUEBA M2PK:	Negativo		PRUEBA M2PK:	Negativo
CEA:	0.78mg-ml		CEA:	0.200mg-ml
PACIENTE:	29MMSA		PACIENTE:	39CTBI
EDAD:	45		EDAD:	53
DIAGNÓSTICO:	S.I.I		DIAGNÓSTICO:	S.I.I
PRUEBA M2PK:	Negativo		PRUEBA M2PK:	Negativo
CEA:	1.25mg-ml		CEA:	0.576mg-ml
PACIENTE:	30SMT		PACIENTE:	40DAJG
EDAD:	60		EDAD:	31
DIAGNÓSTICO:	S.I.I		DIAGNÓSTICO:	S.I.I
PRUEBA M2PK:	Negativo		PRUEBA M2PK:	Positivo
CEA:	0.69mg-ml		CEA:	1.58mg-ml

Anexo 7.

Autorización para realizar el Proyecto de Investigación, Hospital Básico Pelileo.

LABORATORIO CLINICO

FCS
FACULTAD DE CIENCIAS
DE LA SALUD

Ambato, 29 de marzo de 2017
FCS- CLC- 120- 2017

Licenciado
Marco Escobar
DIRECTOR DEL HOSPITAL BÁSICO PELILEO
Presente.-

De mi consideración:

Yo, MARTHA RAMOS RAMÍREZ, con C.I. 180328220-9, en calidad de Coordinadora de la Carrera de Laboratorio Clínico, de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Técnica de Ambato, me dirijo a usted de la manera más comedida para solicitarle el permiso pertinente para que la estudiante PÉREZ LLERENA GLENDA MARIBEL, con C.I. 1804360921, pueda realizar el Proyecto de Investigación con el tema: **"DETERMINACIÓN DEL BIOMARCADOR ENZIMA PIRUVATO QUINASA (M2PK) EN HECES Y EL ANTÍGENO CARCINO EMBRIONARIO EN PACIENTES QUE PRESENTAN SÍNDROME DE INTESTINO IRRITABLE PARA CÁNCER COLORRECTAL"** y tomar las muestras a los pacientes que acuden al Hospital.

Por la favorable atención que se sirva a la presente, le reitero mis más sinceros agradecimientos.

Atentamente,


Bqf. Mg. Martha Ramos Ramírez
COORDINADORA LABORATORIO CLÍNICO



Autorizado
30-03-2017




0996845492 Glenda Pérez

 UNIVERSIDAD
TÉCNICA DE AMBATO
mss/ Cda. Ingahurco Teléfono (03) 3 730 268 Ext. 5209 fes.labclinico@uta.edu.ec
www.uta.edu.ec

Anexo 8.

Certificado de realización de la parte práctica del tema de investigación, Laboratorio Clínico Bacteriológico MED-LAB, Pelileo.



Dra. Gioconda Medina Villegas
Bioquímica Farmacéutica
Dirección: PELILEO, Avda. 22 de Julio y García Moreno
Edif. PLATINUM Altos de la Fiscalía General del Cantón Pelileo
Teléfonos: Laboratorio: 2-831-777/2-831-042 Celular: 0998551760 - 0992362704
E-mail: medlabgio@outlook.com

Ambato, 01 de Agosto del 2017

CERTIFICADO

A petición verbal de la parte interesada, certifico, que: La Srta. **GLENDIA MARIBEL PEREZ LLERENA** con CI: 1804360921, realizó la parte práctica de su proyecto de investigación bajo el tema. **DETERMINACIÓN DEL BIOMARCADOR ENZIMA PIRUVATO QUINASA (M2PK) EN HECES Y EL ANTÍGENO CARCINO EMBRIONARIO EN PACIENTES QUE PRESENTAN SÍNDROME DE INTESTINO IRRITABLE PARA CÁNCER COLORRECTAL.**

En el Laboratorio Clínico MED-LAB de la ciudad de PELILEO durante el mes de Agosto del 2017.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad pudiendo la parte interesada hacer uso del mismo como bien creyere conveniente.


.....
Dra. Gioconda Medina
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA
CI 1804360921

Atentamente

Dr. Gioconda Medina