

Calcitonina [I-125] IRMA KIT

RK-83CT. Estuche para 100 determinaciones

Ensayo inmunoradiométrico para la determinación cuantitativa *in vitro* de la Calcitonina humana en suero humano, en el rango de 2 - 2000 pg/mL.

Introducción

La Calcitonina es una hormona polipeptídica de 32 aminoácidos y 3400 Da de peso molecular, producida por las células C parafoliculares de la glándula tiroidea. Su función biológica primaria es regular el metabolismo óseo, a través de mecanismos de acción que aún no se han dilucidado completamente.

La concentración sérica de la Calcitonina se eleva en la hiperplasia de las células C y en el Carcinoma Medular del Tiroides (CMT). Este último representa el 5 - 10% del total de carcinomas tiroideos y puede ocurrir de forma esporádica o familiar. La determinación de la Calcitonina se recomienda para el diagnóstico, monitorización terapéutica y seguimiento del CMT, así como para el diagnóstico preclínico de las formas familiares de esta neoplasia.

Además de la forma monomérica de la Calcitonina, existen el dímero, formas poliméricas, fragmentos y precursores en la circulación sanguínea, por lo que los valores medidos con diferentes ensayos pueden diferenciarse grandemente entre sí.

La extraordinaria sensibilidad analítica del presente sistema permite la medición de concentraciones extremadamente bajas de Calcitonina, típicas de los sujetos sanos y de los pacientes operados del tiroides.

Principio del ensayo

Este ensayo utiliza el principio del análisis inmunoradiométrico (IRMA) en fase sólida. Para ello emplea dos anticuerpos monoclonales que reconocen dos epítopes diferentes de la molécula. Uno de ellos está marcado con radioyodo (anticuerpo "señal") y el otro, no marcado, funciona como anticuerpo "captura".

El inmunocomplejo formado por el antígeno con los dos anticuerpos ("sándwich") se inmoviliza en la superficie de los tubos de ensayo durante un período de incubación de 16 a 24 horas a temperatura ambiente. Después se decantan los tubos y se mide la radiactividad enlazada en un contador gamma. La radiactividad presente en los tubos es directamente proporcional a la concentración de la hormona presente en el sistema. Utilizando calibradores de concentración conocida de Calcitonina se prepara una curva de calibración a partir de la cual se determina por interpolación la concentración de Calcitonina presente en las muestras.

Contenido del juego

1. TRAZADOR, 1 frasco con 11 mL, listo para usar, contiene < 740 kBq de anticuerpo monoclonal anti-Calcitonina marcado con ¹²⁵I y anticuerpo monoclonal anti-Calcitonina biotinilado en solución tampón con 0,1 % NaN₃ y colorante rojo.
2. CALIBRADORES (S0-S5), 6 frascos con 1 mL de suero equino liofilizado con 0,1% NaN₃, calibrados contra el estándar de referencia WHO 2nd IS 89/620. Su concentración exacta está especificada en la etiqueta de cada frasco.
3. SUERO CONTROL, 2 frascos con 1 mL de suero humano liofilizado con 0,1% NaN₃. Los rangos de aceptación de los controles están especificados en el certificado de calidad incluido.
4. DILUENTE, 1 frasco con 2,0 mL de suero equino listo para usar con 0,1% NaN₃.
5. TUBOS RECUBIERTOS: 2x50 tubos de 12x75 mm, empacados en cajas plásticas, listos para usar.
6. SOLUCIÓN DE LAVADO, 1 frasco, contiene 20 mL de solución concentrada. Diluir con 700 mL de agua destilada. Contiene 0,2 % NaN₃.

Materiales y equipos necesarios

Gradilla fijadora para tubos de ensayo, pipetas de precisión con puntas desechables (100 y 2000 µL), mezclador vórtex o agitador orbital, lámina de polietileno, papel absorbente, contador gamma.

Materiales y equipos recomendados:

Pipeta de repetición para 100 y 2000 µL. Dispensador para el lavado.

Recolección y almacenamiento de las muestras

Las muestras de suero deben colectarse de acuerdo a los procedimientos habituales que se practican en los laboratorios clínicos. Las muestras pueden conservarse entre 2 y 8 °C si el análisis se efectuará dentro de las 24 horas siguientes a su recolección, de lo contrario deben conservarse congeladas a una temperatura igual o menor que -20 °C hasta 3 meses. Las muestras congeladas deben descongelarse y mezclarse completamente antes de su uso. Evitar la congelación y descongelación repetida de las muestras. Las muestras hemolizadas, turbias o lipémicas pueden dar resultados falsos, evite su uso.

Preparación y conservación de los reactivos

La solución concentrada de lavado debe diluirse con 700 mL de agua destilada. Así diluida esta solución se conserva entre 2 y 8 °C hasta la fecha de vencimiento del juego.

Los calibradores y controles se reconstituyen con 1 mL de agua destilada. Para ello se debe mezclar suavemente evitando la formación de espuma. Permitir que la solución alcance la temperatura ambiente (20 a 30 °C) antes de su uso. **Para usos posteriores alícuotar y conservar por debajo de -20 °C hasta la fecha de vencimiento.**

Conservar los demás reactivos entre 2 y 8 °C después de abiertos. A esta temperatura cada componente es estable hasta la fecha de vencimiento del juego. La fecha de caducidad exacta se especifica en la etiqueta del estuche y en el certificado de calidad.

¡PRECAUCIÓN!

Permitir que todos los reactivos y muestras alcancen la temperatura ambiente. Homogenizar completamente todos los reactivos y muestras antes de su uso, evitando la formación de espuma.

Procedimiento para el ensayo

(Ver Tabla 1.)

1. Rotular los tubos recubiertos por duplicado para la actividad total (T), calibradores (S0-S5), controles (CI, CII) y muestras (Mx).
2. Añadir por duplicado 100 µL de calibrador, suero control y muestras en los tubos apropiados. Cuidar de no arañar el fondo de los tubos.
3. Añadir 100 µL de trazador en cada tubo.
4. Mezclar el contenido de cada tubo en vórtex, o alternativamente colocar la gradilla en un agitador orbital y agitar por algunos segundos. Cubrir los tubos con una lámina de polietileno.
5. Incubar los tubos durante 16 - 24 horas a temperatura ambiente.
6. Añadir 2 mL de solución de lavado a cada tubo. Aspirar o decantar el líquido de todos los tubos (excepto T) mediante la inversión de la gradilla. Colocar la gradilla sobre un papel absorbente por 2 minutos manteniendo la posición invertida.
7. Repetir dos veces el procedimiento de lavado según el punto 7.
8. Medir la radiactividad de cada tubo por 60 segundos en un contador gamma y calcular la concentración de Calcitonina en las muestras como se describe a continuación.

Tabla 1. Protocolo del ensayo (volúmenes en microlitros)

Tubos	Total	Calibrador	Control	Muestra
Calibrador		100		
Control			100	
Muestra				100
Trazador	100	100	100	100
Mezclar, incubar los tubos 16-24 horas a temperatura ambiente				
Solución de lavado		2000	2000	2000
Decantar y secar en papel absorbente				
Solución de lavado		2000	2000	2000
Decantar y secar en papel absorbente				
Solución de lavado		2000	2000	2000
Decantar y secar en papel absorbente				
Medir la radiactividad (60 s/tubo)				
Procesar los datos				

Cálculo de los resultados

En la Tabla 2 y la figura 1 se muestran a manera de ejemplo los cálculos y una curva estándar típica de un ensayo.

Para los cálculos:

Hallar la media de los conteos por minuto (cpm) para cada par de tubos. Restar de cada media el promedio de cpm obtenido para el calibrador de concentración cero (S0 = enlace no específico, NSB). Los valores así corregidos se dividen por la actividad total (T) como se muestra a continuación:

$$B/T (\%) = \frac{S1-5/C/Mx/(\text{cpm}) - S0(\text{cpm})}{T(\text{cpm})} \times 100$$

Construir una curva estándar plotando las medias de cpm o, alternativamente, los valores B/T% contra la concentración de Calcitonina de cada calibrador en un papel log-log. Determinar la concentración de Calcitonina en las muestras basándose en las respectivas medias de cpm o en los valores B/T%, por interpolación de la curva estándar. No extrapolar valores fuera del rango de la curva.

Para el procesamiento automatizado de los datos, recomendamos el uso del programa de ajuste tipo spline, desarrollado especialmente para el análisis inmunoradiométrico. Existen programas que interpolan los valores que se encuentran entre el calibrador de concentración cero y el primer calibrador. Entre las concentraciones así calculadas, solo aquellas mayores que el límite de detección del ensayo pueden considerarse como reales (ver sensibilidad).

Tabla 2. Resultados característicos del ensayo

Tubos	Media cpm	B/T%
T	303 022	-
S0	182	0,06
S1	1 459	0,42
S2	4 759	1,51
S3	15 195	4,95
S4	46 921	15,4
S5	143 589	47,3
CI	2 804	0,87
CII	9 714	3,15

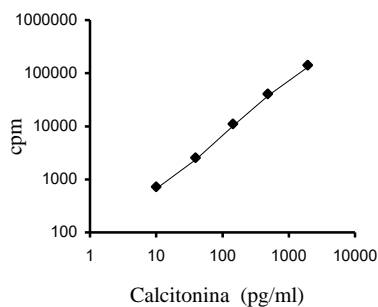


Figura 1.

Curva estándar típica (No utilizar para calcular concentraciones de las muestras!)

Características del ensayo

Sensibilidad

Los Límites del Blanco (LoB), de Detección (LoD) y de Cuantificación (LoQ) fueron determinados según la guía del CLSI, documento EP17.

LoB = 0,65 pg/mL

LoD = 1,2 pg/mL

LoQ = 2,0 pg/mL.

Especificidad

Los anticuerpos monoclonales utilizados en este kit son específicos a la Calcitonina humana. No se detecta interferencia con la Procalcitonina en el ensayo hasta concentraciones ≤ 129 ng/mL.

Precisión

La precisión de un solo sitio se calculó utilizando cinco muestras a diferentes concentraciones de Calcitonina, de acuerdo con el documento EP05-A3 del CLSI. Las muestras se midieron en veinte días, con dos ensayos por día y utilizando dos réplicas por muestra.

Muestra	Media (pg/mL)	Repetibilidad		Precisión intra-laboratorio	
		SD	CV%	SD	CV%
Pool 1	6,86	0,621	9,06	1,042	15,19
Pool 2	20,71	1,05	5,07	1,66	8,01
Pool 3	68,53	2,68	3,91	4,63	6,76
Pool 4	83,47	3,17	3,80	5,08	6,08
Pool 5	257,55	10,89	4,23	15,29	5,94

La precisión multi-sitio se calculó utilizando 5 muestras a diferentes concentraciones de Calcitonina, de acuerdo con el documento EP05-A3 del CLSI. Las muestras se midieron en tres sitios diferentes, en cada sitio se realizaron cinco corridas, una corrida por día y utilizando cinco réplicas por corrida.

Muestra	Media (pg/mL)	Repetibilidad		Precisión intra-laboratorio		Reproducibilidad	
		SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%
Pool 1	1,22	0,27	22,01	0,28	23,34	0,29	23,46
Pool 2	8,51	0,41	4,85	0,46	5,39	0,51	6,03
Pool 3	26,07	0,85	3,27	0,93	3,58	1,03	3,93
Pool 4	193,37	9,10	4,70	9,28	4,80	9,63	4,98
Pool 5	366,21	9,95	2,72	12,49	3,41	13,17	3,60

Prueba de recuperación

La recuperación se determinó como la diferencia porcentual entre el incremento observado y el incremento esperado, luego de añadir concentraciones conocidas (a 3 niveles) de Calcitonina a 4 muestras de suero diferentes. La recuperación obtenida estuvo entre 101% y 122%.

Linealidad

La linealidad se evaluó de acuerdo con el documento EP06-A del CLSI, utilizando el método polinomial. El método resultó lineal desde 2,0 pg/ml hasta 1859,93 pg/ml, con un margen de error del 10 % en este intervalo.

Interferencias

Las pruebas de interferencia se realizaron de acuerdo con el documento EP07-A2 del CLSI. No se observa interferencia hasta las siguientes concentraciones:

Bilirrubina	143 μ mol/L
Triglicéridos	27 mmol/L
Hemoglobina	12,2 g/L
Factor Reumatoide	400 IU/mL
Biotina	100 ng/mL
Acido acetilsalicílico	3,0 mg/dL
Acido ascórbico	5,25 mg/dL
Diclofenaco	2,4 mg/dL
Ibuprofeno	21,9 mg/dL
Paracetamol	15,6 mg/dL
Cabozantinib	20 mg/dL
Cisplatina	20 mg/dL
Doxorubicina	50 mg/dL
Fluorouracilo	200 mg/dL
Lenvatinib	2 mg/dL
Sorafenib	100 mg/dL
Vandetanib	50 mg/dL
Levotiroxina	10 μ g/mL

Efecto Hook

No se observa efecto Hook con el uso del presente producto en concentraciones de Calcitonina hasta 300 000 pg/mL. Para cualquier muestra con una concentración en el intervalo entre 2000 - 300 000 pg/mL se obtendrán valores superiores a 2000 pg/mL. Estas muestras deben ser diluidas con el diluyente y reanalizadas. Se recomiendan diluciones en serie de 1:10.

Valores de referencia

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia. Los valores que se proporcionan a continuación deben considerarse solo como informativos.

Se evaluaron las muestras de 607 adultos presumiblemente sanos (303 hombres y 304 mujeres). El 99,8% de los resultados se encuentra por debajo de **10 pg/mL**.

Limitaciones del procedimiento

- Los reactivos provistos en este juego están optimizados para la medición de Calcitonina en suero humano.
- Los resultados de este análisis deben ser utilizados conjuntamente a la información clínica pertinente. Los resultados solo deben ser interpretados dentro del contexto clínico apropiado y nunca como prueba única e infalible de anomalía o enfermedad.
- En algunas situaciones patológicas la calcitonina puede estar elevada sin ningún valor diagnóstico o pronóstico, por ejemplo, en algunos casos de hipercalcemia, insuficiencia renal, hipergastrinemia y pancreatitis aguda.

Notas acerca del procedimiento

¡Fuente de error! Los tubos recubiertos no están marcados individualmente. Se debe evitar la mezcla con tubos de ensayo comunes. Para minimizar este riesgo, no se deben sacar de la caja más tubos de los necesarios, de igual manera los tubos no utilizados en una serie deben ser guardados de nuevo en su caja. Se recomienda rotular los tubos con marcador permanente.

¡Atención! No mezclar los componentes de lotes diferentes o con productos de otro fabricante.

Precauciones

Material radiactivo

Este producto contiene material radiactivo. Es responsabilidad de cada laboratorio cumplir con las regulaciones locales referentes a la manipulación, conservación y desecho de materiales radiactivos.

Material potencialmente infeccioso

El suero humano utilizado en este producto ha sido analizado con métodos aprobados y no ha presentado positividad para anticuerpos frente a los virus de Inmunodeficiencia Humana (Anti-HIV-1/2) y Hepatitis-C (HCV), anticuerpos anti-Treponema y el antígeno de superficie de la Hepatitis-B (HBsAg). Ninguno de los métodos analíticos disponibles actualmente puede garantizar por completo la eliminación de posibles riesgos biológicos. Se deben manipular todos los reactivos y muestras de sangre como *material potencialmente infeccioso*.

Todos los productos y derivados de origen animal provienen de animales saludables. No obstante, los componentes que contienen suero animal deben considerarse como *material potencialmente infeccioso*.

Peligro químico

Algunos componentes de este juego contienen azida sódica como preservativo. Al verter los desechos no radiactivos al sistema de desagüe se debe diluir con grandes cantidades de agua, para evitar la acumulación de azidas metálicas explosivas en las tuberías de plomo y cobre. Este producto contiene en total 61 mg de azida sódica.

MSDS: La hoja de datos de seguridad está disponible públicamente en el sitio web www.izotop.hu/immunoassay.

Literatura

1: Wells SA Jr, Asa SL, Dralle H, Elisei R, Evans DB, Gagel RF, Lee N, Machens A, Moley JF, Pacini F, Raue F, Frank-Raue K, Robinson B, Rosenthal MS, Santoro M, Schlumberger M, Shah M, Waguespack SG; American Thyroid Association Guidelines Task Force on Medullary Thyroid Carcinoma. *Revised American Thyroid*

Association guidelines for the management of medullary thyroid carcinoma. Thyroid. 2015 Jun;25(6):567-610.

2: Filetti S, Durante C, Hartl D, Leboulleux S, Locati LD, Newbold K, Papotti MG, Berruti A; ESMO Guidelines Committee. *Electronic address: clinicalguidelines@esmo.org. Thyroid cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2019 Dec 1;30(12):1856-1883.*

3: Schlumberger M, Bastholt L, Dralle H, Jarzab B, Pacini F, Smit JW; European Thyroid Association Task Force. *2012 European thyroid association guidelines for metastatic medullary thyroid cancer. Eur Thyroid J. 2012 Apr;1(1):5-14.*

4: Zanelli JM, Gaines-Das RE, Corran P. *Establishment of the second international standards for porcine and human calcitonins: report of the international collaborative study. Acta Endocrinol (Copenh). 1993 May;128(5):443-50.*

















5: Broecker-Preuss M, Simon D, Fries M, Kornely E, Weber M, Vardarli I, Gilman E, Herrmann K, Gorges R. *Update on Calcitonin Screening for Medullary Thyroid Carcinoma and the Results of a Retrospective Analysis of 12,984 Patients with Thyroid Nodules. Cancers (Basel). 2023 Apr 17;15(8):2333.*

6: CLSI. *Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline—Third Edition. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.*

7: CLSI. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2003.*

8: CLSI. *Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline—Second Edition. CLSI document EP07-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA; 2005.*

9: CLSI. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI document EP17-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.*

	Fecha de vencimiento		Número de lote
	Almacenar entre 2 y 8 °C		Suero Control
	Precaución		Calibrador
	Peligro biológico		Tubos recubiertos
	Consulte las instrucciones		Trazador
	Dispositivo para diagnóstico <i>in vitro</i>		Tampón de lavado
	Fabricante		Material radiactivo
	Número de referencia		Diluyente



Sitio WEB: <http://www.izotop.hu>
E-mail técnico: immuno@izotop.hu
E-mail comercial: commerce@izotop.hu



INSTITUTE OF ISOTOPES Ltd.
1535 Budapest. P.F.: 851.
Tel.: +36 1 392-2577, Fax: +36 1 395-9247