

CYFRA 21.1 [I-125] IRMA KIT

Código RK-211CT (RK-211CT50). Estuche para 100 (50) determinaciones.

Análisis inmunoradiométrico para la determinación cuantitativa *in vitro* de fragmentos de Citoqueratina 19 en suero humano, en el rango de 0,25-60 ng/mL.

Introducción

La Citoqueratina 19 es una proteína de 40 kDa de peso molecular, miembro de una familia de más de 20 polipéptidos diferentes (citoqueratinas) que conforman la estructura del filamento intermedio de las células epiteliales. Las citoqueratinas son poco solubles, pero luego de la degradación proteolítica se forman fragmentos solubles que pasan a los fluidos corporales.

El CYFRA 21.1 IRMA es un inmunoensayo para la determinación de fragmentos de Citoqueratina 19 en suero humano que está basada en el uso de dos anticuerpos monoclonales (BM 19.21* y KS 19.1*), los cuales reconocen dos epítopes diferentes de la molécula.

El CYFRA 21.1 es un marcador de utilidad para el cáncer de pulmón de células no pequeñas, particularmente para el carcinoma de células escamosas. Se pueden observar además niveles elevados en otras neoplasias, como el cáncer de vejiga músculo-invasivo. Valores ligeramente elevados pueden presentarse también en hepatopatías benignas y en la insuficiencia renal.

El ensayo de CYFRA21.1 no es útil para el pesquijaje del cáncer de pulmón. Su determinación puede ser relevante para definir el pronóstico, el subsiguiente control de la terapia y el monitoreo del curso de la enfermedad.

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: un anticuerpo "señal" marcado con radioyodo (BM19.21*) y otro, conjugado a biotina, funciona como anticuerpo "captura" (KS19.1*).

El inmunocomplejo formado por el antígeno con los dos anticuerpos se inmoviliza en la superficie de los tubos de ensayo recubiertos con streptavidina durante un período de incubación de 18-22 horas en frío. 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 CYFRA21.1 se prepara una curva de calibración a partir de la cual se determina por interpolación la concentración de CYFRA21.1 presente en las muestras.

*anticuerpos de Fujirebio Diagnostics Inc.

**Contenido del juego**

1. TRAZADOR, 1 frasco (11 mL), listo para usar, contiene < 980 kBq de anti-CYFRA21.1 marcado con ¹²⁵I y anti-CYFRA21.1 biotinilado en solución tampón con 0,1 % NaN₃ y colorante rojo.

2. DILUENTE (DIL), 1 frasco (10 mL) listo para usar, contiene suero equino y 0,1% de NaN₃.

3. CALIBRADORES (S0-S5), 6 frascos (6 x 1 mL), contienen CYFRA21.1 en suero equino liofilizado con 0,1% NaN₃. La concentración se especifica en el certificado de calidad incluido. *La calibración de este ensayo se realizó utilizando como referencia el sistema Fujirebio Diagnostics Inc. CYFRA21.1 RIA.*

4. SUEROS CONTROL, 2 frascos (2 x 1 mL), contienen CYFRA21.1 en suero humano liofilizado con 0,1% NaN₃. El rango de concentración está especificado en el certificado de calidad incluido.

5. SOLUCIÓN DE LAVADO, 1 frasco (20 mL). Solución concentrada a diluir con 700 mL de agua destilada. Contiene 0,2 % NaN₃.

6. TUBOS RECUBIERTOS: 2x50 (RK-211CT) ó 1x50 (RK-211CT50) tubos de 12x75 mm, empaquetados en cajas plásticas, listos para usar.

Materiales y equipos necesarios

Gradilla para tubos de ensayo, pipeta de precisión con puntas desechables (100 µL), lámina de polietileno, papel absorbente, contador gamma.

Materiales y equipos recomendados:

Pipeta de repetición (100 µL). Jeringa automática (dispensador) o pipeta de repetición (2 mL) 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 habrá de efectuarse dentro de las 24 horas siguientes, de lo contrario deben conservarse congeladas a una temperatura igual o menor que -20 °C hasta 20 semanas. Las muestras congeladas deben descongelarse y mezclarse completamente antes de su uso.

¡No se deben agitar las muestras en vórtex!

Evitar la congelación y descongelación repetida de las muestras. Las muestras hemolizadas, turbias o lipémicas pueden dar resultados falsos, evite su uso.

Las muestras con valores superiores a 60 ng/mL deben ser diluidas con el diluyente y reanalizadas. Se recomienda una dilución de 1:10 (450 µL DIL + 50 µL muestra).

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 alicuotar 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.

Procedimiento para el ensayo

(Ver Tabla 1.)

Tabla 1. Protocolo del ensayo (volúmenes en microlitros)

	T	S0-S5	CI-CII	M
Calibrador		100		
Control			100	
Muestra				100
Trazador	100	100	100	100
Incubar 18-22 horas a 2 – 8 °C				
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:

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

Construir una curva estándar ploteando las medias de cpm o, alternativamente, los valores B/T% contra la concentración de CYFRA21.1 de cada calibrador.

Determinar la concentración de CYFRA21.1 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%	CYFRA 21.1 ng/mL
T	304068		
S0	812	0,3	0
S1	4026	1,3	1,1
S2	10446	3,4	4,7
S3	25735	8,5	13
S4	52315	17,2	27
S5	99240	32,6	54
CI	11438	3,8	5,3
CII	31914	10,5	16,3

Características del ensayo

Especificidad

Los anticuerpos monoclonales utilizados en este ensayo garantizan la medición específica de CYFRA21.1. No se observa reacción cruzada hasta concentraciones de:

CA125	3022,5 U/mL
CA19-9	2223,9 U/mL
CA15-3	690,7 U/mL
CA72-4	1200 U/mL

Sensibilidad

Los Límites del Blanco (LoB), de Detección (LoD) y de Cuantificación (LoQ) fueron determinados según la guía del CLSI, documento EP17-A2.

LoB = 0,09 ng/mL

LoD = 0,14 ng/mL

LoQ = 0,25 ng/mL

Linealidad

La linealidad se evaluó de acuerdo con el documento EP06-Ed2 del CLSI, utilizando 5 réplicas de concentraciones a 20 niveles. El método resultó lineal desde 0,046 ng/mL hasta 64,85 ng/mL, con un margen de error del 15 % en este intervalo.

Precisión

La precisión de un solo sitio se calculó utilizando cinco muestras a diferentes concentraciones de CYFRA 21.1, 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 (ng/mL)	Repetibilidad		Precisión intra-laboratorio	
		SD	CV%	SD	CV%
Pool 1	1,65	0,09	5,15	0,16	9,56
Pool 2	5,66	0,20	3,51	0,46	8,21
Pool 3	10,96	0,46	4,18	0,94	8,54
Pool 4	21,07	1,06	5,05	1,61	7,65
Pool 5	40,75	1,69	4,14	2,28	5,59

La precisión multi-sitio se calculó utilizando 5 muestras a diferentes concentraciones de CYFRA 21.1, 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 (ng/mL)	Repetibilidad		Precisión intra-laboratorio		Reproducibilidad	
		SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%
Pool 1	1,71	0,09	5,19	0,13	7,71	0,14	8,23
Pool 2	5,29	0,28	5,38	0,33	6,29	0,35	6,62
Pool 3	10,20	0,43	4,21	0,56	5,45	0,61	5,97
Pool 4	19,70	0,89	4,54	0,92	4,69	1,03	5,23
Pool 5	38,21	1,39	3,65	2,08	5,45	2,26	5,92

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 tres niveles de CYFRA21.1 a 5 muestras de suero diferentes. La recuperación media obtenida fue de 104,7%, con un rango del 80,6% al 124,5%.

Efecto Hook

No se observa efecto Hook con el uso del presente producto en concentraciones de CYFRA21.1 hasta 5795 ng/mL.

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.

El intervalo de referencia se estableció siguiendo la guía EP28-A3c CLSI, utilizando el método no paramétrico. Se evaluaron 413 donantes de sangre presuntamente sanos.

El límite superior del 95% del intervalo de referencia (con intervalos de confianza del 90%) es de **3,24 ng/mL** (3,1 – 3,69 ng/mL).

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	359 µmol/L
Triglicéridos	11,9 mmol/L
Hemoglobina	3,63 g/L
Biotina	50 ng/mL
Factor Reumatoide	400 IU/mL
Paracetamol	15,6 mg/dL
Ácido acetilsalicílico	3,0 mg/dL
Acido ascórbico	5,25 mg/dL
Diclofenaco	2,4 mg/dL
Ibuprofeno	21,9 mg/dL
Carboplatino	100 mg/dL
Cisplatino	20 mg/dL
Docetaxel	10 mg/dL
Gemcitabina	150 mg/dL
Paclitaxel	20 mg/dL

Notas acerca del procedimiento

1. El no respeto de las instrucciones del presente inserto puede afectar los resultados significativamente.
2. No se deben mezclar los componentes de lotes diferentes o con productos de otro fabricante.

Limitaciones del procedimiento

- La determinación de CYFRA21.1 no debe utilizarse como un test de pesquizaje.
- En algunos individuos sanos y pacientes con enfermedades no malignas se pueden encontrar valores de CYFRA21.1 iguales o superiores a 3,24 ng/mL.
- Los valores de CYFRA21.1 inferiores a 3,24 ng/mL no indican la ausencia de cáncer residual.
- Los resultados deben interpretarse a la luz del cuadro clínico total del paciente, incluyendo su historia clínica y los datos de otras pruebas diagnósticas adicionales.
- Las muestras de pacientes que han recibido inmunoglobulinas de ratón con objetivo diagnóstico o terapéutico pueden contener anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA), cuya interferencia puede ocasionar resultados erróneos.

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*.

Peligro químico

Algunos componentes de este juego contienen azida sódica como preservante. 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 69 mg de azida sódica.

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

Literatura

1: Petra Stieber, Rudolf Hatz, Stefan Holdenrieder, Rafael Molina, Marius Nap, Joachim von Pawel, Andreas Schalhorn, Joachim Schneider, Ken Yamaguchi. *National Academy of Clinical Biochemistry Guidelines for the Use of Tumor Markers in Lung Cancer. Tumor Biology*;27, 2006.

2: He Y, Cui Y, Chang D, Wang T. *Postoperative CYFRA 21-1 and CEA as prognostic factors in patients with stage I pulmonary adenocarcinoma. Oncotarget*. 2017 May 4;8(42):73115-73122.

3: Holdenrieder S, Wehnl B, Hettwer K, Simon K, Uhlig S, Dayyani F. *Carcinoembryonic antigen and cytokeratin-19 fragments for assessment of therapy response in non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. Br J Cancer*. 2017 Apr 11;116(8):1037-1045.

4: Yu Z, Zhang G, Yang M, Zhang S, Zhao B, Shen G, Chai Y. *Systematic review of CYFRA 21-1 as a prognostic indicator and its predictive correlation with clinicopathological features in Non-small Cell Lung Cancer: A meta-analysis. Oncotarget*. 2017 Jan 17;8(3):4043-4050.

5: Yoshimura A, Uchino J, Hasegawa K, Tsuji T, Shiotsu S, Yuba T, Takumi C, Yamada T, Takayama K, Hiraoka N. *Carcinoembryonic*

antigen and CYFRA 21-1 responses as prognostic factors in advanced non-small cell lung cancer. Transl Lung Cancer Res. 2019 Jun;8(3):227-234.

6: Minamibata, Asami, et al. "Variability of serum CYFRA 21 - 1 and its susceptibility to clinical characteristics in individuals without cancer: a 4-year retrospective analysis. *BMC Pulm Med* 23, no. 1, 13 Sept. 2023, p. 344.

7: Canki E, Schuurbiens MM, Linders TC, Korse CM, van den Heuvel MM, van Herwaarden AE, van Rossum HH. *Pre-analytical stability of the CEA, CYFRA 21.1, NSE, CA125 and HE4 tumor markers. Tumour Biol*. 2024;46(s1):S15-S25.


















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

9: CLSI. *Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures. 2nd ed. CLSI guideline EP06*. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020.


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

11: 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.

12: CLSI. *Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Third Edition. CLSI document EP28-A3c*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.

	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. Pf.: 851.
Tel.: (36-1)392-2577, Fax: (36-1)395-9247

Nota legal

CYFRA21.1™ es una marca registrada de Fujirebio Diagnostics Inc. (FDI). El presente ensayo de CYFRA21.1 IRMA está basado en el uso de los anticuerpos monoclonales BM19.21 y KS19.1, los cuales solo pueden ser adquiridos a través de FDI y sus distribuidores autorizados.