

CYFRA 21-1

CYFRA 21-1 (CLIA)

Información para pedidos

Número de catálogo	Presentación
CYFRA 21-1111	2 × 50 pruebas
CYFRA 21-1112	2 × 100 pruebas
CYFRA 21-1113	2 × 30 pruebas

Uso Previsto

El ensayo de CYFRA 21-1 serie CL es un inmunoensayo de quimioluminiscencia (CLIA) para la determinación cuantitativa del fragmento de citoqueratina 19 (CYFRA 21-1) en plasma o suero humano.

Resumen

Las citoqueratinas son proteínas estructurales de filamentos intermedios que se encuentran en el citoesqueleto del tejido epitelial. Las citoqueratinas se han subdividido en 20 grupos diferentes de acuerdo a su peso molecular y punto isoeléctrico en electroforesis bidimensional. La citoqueratina 19 se encuentra en una gran cantidad de tejidos epiteliales y en los carcinomas (p. ej., cáncer de pulmón).¹⁻⁴

La principal indicación de la CYFRA 21-1 es vigilar la evolución del cáncer de pulmón amicrocítico (NSCLC).⁵⁻⁷ La CYFRA 21-1 también ofrece valor de pronóstico en cáncer invasor de la vesícula biliar.⁸⁻¹⁰ La concentración de CYFRA 21-1 sérica puede ser elevada en los pacientes con cáncer de ovario, páncreas, estómago, próstata, hígado y colorrectal, etc.¹

Con un valor de corte de 3,3 ng/ml, la CYFRA 21-1 puede discriminar las enfermedades pulmonares benignas del cáncer de pulmón con un 60% de sensibilidad y un 95% de especificidad. El valor no se afecta en fumadores ni embarazadas. Altos niveles de CYFRA 21-1 sérica indican un tumor de estadio avanzado y un mal pronóstico. Un valor constante o algo disminuido de CYFRA 21-1 indica la eliminación incompleta de un tumor o la presencia de varios tumores con las consecuencias de pronóstico y tratamiento correspondientes.

Un tratamiento efectivo se documenta con una rápida disminución de la concentración de CYFRA 21-1 sérica hasta el intervalo normal.^{5-7 11}

El ensayo de CYFRA 21-1 no se recomienda como procedimiento de análisis para detectar cáncer en la población general. Sin embargo, se considera como una ayuda para el tratamiento de los pacientes de cáncer de pulmón.

Principio del ensayo

El ensayo de CYFRA 21-1 serie CL es un ensayo inmunoenzimático de dos lugares para determinar el nivel de fragmento de citoqueratina 19.

En el primer paso, las micropartículas paramagnéticas de muestra recubiertas con anticuerpo monoclonal anti-CYFRA 21-1 (ratón) y anticuerpo monoclonal anti-CYFRA 21-1 conjugado a la fosfatasa alcalina (ratón) se añaden a una cubeta de reacción. Tras la incubación, la CYFRA 21-1 de la muestra se une a las micropartículas recubiertas de anticuerpo anti-CYFRA 21-1 y al anticuerpo anti-CYFRA 21-1 conjugado a la fosfatasa alcalina para formar un complejo de sándwich. Las micropartículas se capturan magnéticamente y las sustancias sin unir se eliminan por lavado.

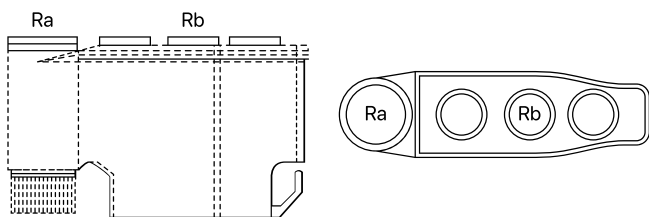
En el segundo paso, la solución de sustrato se añade a la cubeta de reacción. El anticuerpo anti-CYFRA 21-1 conjugado a la fosfatasa alcalina (ratón) cataliza la solución en el inmunocomplejo que queda en las micropartículas. La reacción quimioluminiscente resultante se mide como unidades de luz relativas (RLU) con el fotomultiplicador integrado en el sistema. La cantidad de CYFRA 21-1 presente en la muestra es proporcional a las unidades de luz relativas (RLU) generadas durante la reacción. La concentración de CYFRA 21-1 puede calcularse con la curva de calibración.



Componentes reactivos

Ra	Micropartículas paramagnéticas recubiertas con anticuerpo monoclonal anti-CYFRA 21-1 (ratón) en el búfer MES con conservante.
Rb	Anticuerpo monoclonal anti-CYFRA 21-1 conjugado a la fosfatasa alcalina (ratón) en el búfer TRIS con conservante.

La posición de cada componente reactivo se muestra en la siguiente figura (vista delantera por la izquierda y vista superior por la derecha):



Almacenamiento y estabilidad

El kit de reactivos CYFRA 21-1 (CLIA) es estable sin abrir hasta la fecha de caducidad indicada si se almacena a 2-8 °C.

El kit de reactivos CYFRA 21-1 (CLIA) puede almacenarse en el analizador y usarse hasta 28 días después de abierto si se mantiene a 2-8 °C.

Preparación del reactivo

Ra: Listo para su utilización

Rb: Listo para su utilización

Materiales necesarios pero no incluidos

Analizador para inmunoensayo de quimioluminiscencia serie CL de Mindray.

Cat.No.CYFRA 21-1211: Calibradores CYFRA 21-1, 1×2,0 ml de cada calibrador C(0), C(1) y C(2).

Cat.No.CYFRA 21-1212: Calibradores CYFRA 21-1, 1×1,2 ml C(0), 1×1,0 ml C(1) y 1×1,0 ml C(2).

Cat.No.TMI.321: Multicontrol de marcador tumoral (L), 1×5,0 ml.

Cat.No.TMI1321: Multicontrol de marcador tumoral (H), 1×5,0 ml.

Cat.No.TMI.322: Multicontrol de marcador tumoral (L), 3×5,0 ml.

Cat.No.TMI1322: Multicontrol de marcador tumoral (H), 3×5,0 ml.

Cat.No.TMI.323: Multicontrol de marcador tumoral (L), 6×5,0 ml.

Cat.No.TMI1323: Multicontrol de marcador tumoral (H), 6×5,0 ml.

Cat.No.TMI.324: Multicontrol de marcador tumoral (L), 12×5,0 ml.

Cat.No.TMI1324: Multicontrol de marcador tumoral (H), 12×5,0 ml.

Cat.No.WB411: Búfer de lavado, 1 ×10 l.

Cat.No.CS511: Solución de sustrato, 4 ×115 ml.

Cubeta de reacción.

Instrumento aplicable

Analizador para inmunoensayo de quimioluminiscencia serie CL de Mindray.

Preparación y obtención de muestras

Para este ensayo, se recomiendan muestras de plasma EDTA, heparina sódica, heparina de litio o suero humano. Obtenga las muestras de sangre siguiendo las precauciones rutinarias para la venopunción. Siga las recomendaciones del fabricante del tubo de extracción sanguínea para la centrifugación. Centrifugue las muestras cuando finalice la formación del coágulo. Algunas muestras, en particular las de los pacientes que reciben terapia anticoagulante, podrían tener un tiempo de coagulación mayor. Antes del análisis, compruebe que la materia celular y fibrina residual se han eliminado.

Para lograr unos resultados óptimos, inspeccione si hay burbujas en todas las muestras. Elimine las burbujas con una pipeta antes del análisis. Las muestras se deben mezclar bien después de descongelarse. Las muestras descongeladas deben centrifugarse antes de usarse. Si la muestra se cubrió con una capa lipídica tras la centrifugación, debe transferirse a un tubo limpio antes del ensayo. No transfiera la capa lipídica. Manipule con cuidado para evitar la contaminación cruzada. No use las muestras muy hemodizadas. No use las muestras inactivadas con calor.



Las muestras se deben analizar a la mayor brevedad después de su obtención. Si el análisis no se realiza antes de las 8 horas, las muestras se deben almacenar a una temperatura máxima de 2-8 °C. Las muestras se mantienen estables durante 4 semanas a 2-8 °C, 6 meses a -20 °C. Evite más de cinco ciclos de congelación.

Procedimiento del ensayo

Para obtener resultados óptimos con este ensayo, los operadores deben leer detenidamente el manual de funcionamiento del sistema para informarse bien sobre las instrucciones de funcionamiento, el control y la conservación de las muestras, las precauciones de seguridad y el mantenimiento. Prepare también todos los materiales necesarios para el ensayo.

Antes de introducir el kit de reactivos CYFRA 21-1 (CLIA) en el analizador por primera vez, el frasco de reactivo sin abrir debe volcarse suavemente al menos 30 veces para volver a suspender las micropartículas que se han asentado durante el envío o almacenamiento. Inspeccione visualmente el frasco para confirmar que las micropartículas están suspendidas. Si las micropartículas permanecen adheridas al frasco, continúe volcándolo hasta que se vuelvan a suspender por completo. Si las micropartículas no se suspenden, se recomienda no usar ese frasco de reactivo. Póngase en contacto con el servicio de atención al cliente de Mindray. No vuelque los frascos de reactivo abiertos.

Para este ensayo, se necesitan 10 µl de muestra para un único análisis. Este volumen no incluye el volumen muerto del contenedor de la muestra. Si se realizan más análisis de la misma muestra, se necesita un volumen adicional. Los operadores deben consultar el manual de funcionamiento del sistema y el requisito específico del ensayo para determinar el volumen mínimo de muestra.

Calibración

La CYFRA 21-1 (CLIA) se ha estandarizado de acuerdo con un ensayo de CYFRA 21-1 comercial (CLIA).

La información específica de la curva de calibración principal del kit de reactivos de CYFRA 21-1 (CLIA) se registra en el código de barras bidimensional adherido al paquete de reactivos. Se usa junto con calibradores CYFRA 21-1 para la calibración del lote de reactivos específico.

Cuando se realiza la calibración, en primer lugar escanee la información de la curva de calibración principal del código de barras en el sistema y, a continuación, use los tres niveles de calibradores CYFRA 21-1. Antes de realizar ningún ensayo de CYFRA 21-1, es necesario obtener la curva de calibración válida. Se recomienda repetir la calibración cada 4 semanas, cuando se use un nuevo lote de reactivos o cuando los controles de calidad no se ajusten al intervalo de valores especificado. Para obtener instrucciones detalladas de la calibración, consulte el manual de funcionamiento del sistema.

Control de calidad

Se recomienda que los controles de calidad se ejecuten cada 24 horas si las pruebas están en uso o después de cada calibración. La frecuencia del control de calidad se debe adaptar a los requisitos individuales de cada laboratorio. Los dos niveles de controles de calidad recomendados para este ensayo son: multicontrol de marcador tumoral (L) y multicontrol de marcador tumoral (H).

Los resultados de los controles de calidad deben ajustarse a los intervalos admisibles. Si un control no se ajusta a su intervalo especificado, los resultados del ensayo correspondiente no serán válidos y las muestras deberán volver a analizarse. Podría ser necesario repetir la calibración. Inspeccione el sistema de ensayo consultando el manual de funcionamiento del sistema. Si los resultados de los controles de calidad siguen sin ajustarse al intervalo especificado, póngase en contacto con el servicio de atención al cliente de Mindray.

Cálculo

El analizador calcula automáticamente la concentración de analitos de cada muestra a partir de la lectura del código de barras con la curva de calibración principal, y según el ajuste de la curva obtenida por la función logística de 4 parámetros (4PLC) con las unidades de luz relativas (RLU) generadas desde los calibradores CYFRA 21-1 de los valores de concentración definidos. Los resultados se muestran en unidades de ng/ml.

Dilución

Las muestras con concentraciones CYFRA 21-1 que sobrepasan el límite superior se pueden diluir con el diluyente de muestra Mindray. El diluyente recomendado es 1:2 (ya sea manualmente o de forma automática mediante el analizador).



La concentración de la muestra diluida debe ser >5 ng/ml. Después de la dilución manual, multiplique el resultado por el factor de dilución. Después de que los analizadores realizan la dilución automática, el sistema automáticamente multiplica el resultado por el factor de dilución cuando calcula la concentración de la muestra.

Valores esperados

Un estudio en una cohorte de 280 individuos sanos y 312 pacientes con enfermedades de pulmón benignas ha determinado el intervalo de referencia del ensayo de CYFRA21-1 serie CL.

Categoría	Número de muestras	Percentil 95°
Sano	280	
Tumor pulmonar benigno	312	3,3 ng/ml

Por las diferencias de parámetros geográficos, raza, sexo y edad, es muy recomendable que cada laboratorio establezca su propio intervalo de referencia.

Limitación

El límite superior de este ensayo es 500 ng. Una muestra con una concentración de CYFRA 21-1 inferior al límite superior puede determinarse en términos cuantitativos, mientras que la muestra con una concentración mayor al límite superior se registra como >500 ng/ml o diluir las muestras con el diluyente de muestras de Mindray.

La concentración de CYFRA 21-1 en una muestra concreta, determinada con ensayos de distintos fabricantes, puede variar debido a las diferencias en los métodos de ensayo, la calibración y la especificidad de los reactivos. Los resultados de los ensayos se usarán junto con otros datos para tomar decisiones clínicas, como síntomas, resultados de otras pruebas, historia clínica.

La muestra de los individuos expuestos a anticuerpos monoclonales de ratón podría contener anticuerpos humanos antiratón (HAMA)[(12)]. Estas muestras podrían dar valores erróneamente elevados o bajos con los kits de ensayo que usan anticuerpos monoclonales de ratón[(13, 14)]. Sin embargo, en este ensayo no se han observado interferencias obvias de HAMA.

Características de rendimiento

Sensibilidad analítica / límite de detección

El kit de reactivos de CYFRA 21-1 (CLIA) tiene una sensibilidad analítica de $\leq 0,1$ ng/ml. La sensibilidad analítica se define como la concentración más baja de analitos que puede diferenciarse de una muestra que no contiene analitos. Se define como la concentración de CYFRA 21-1 con las dos desviaciones estándar superiores al valor de RLU medio calculado con 20 mediciones de una muestra sin analitos.

Intervalo posible

El intervalo de notificación se define por la sensibilidad analítica y el límite superior de la curva de calibración principal. El intervalo de notificación del kit de reactivos de CYFRA 21-1 (CLIA) es 0,1-500 ng/ml (o el límite superior llega hasta los 1000 ng/ml para las muestras diluidas de 2 dimensiones).

Especificidad

Concentraciones máximas de hemoglobina de 1500 mg/dl, bilirrubina de 70 mg/dl, triglicéridos de 1500 mg/dl y proteína total de 10 g/dl no interfieren con el ensayo de CYFRA 21-1 serie CL. Estas sustancias muestran interferencias inferiores al 10 % en las concentraciones indicadas.

No se observaron interferencias obvias por factor reumatoideo (hasta 800 IU/ml) ni anticuerpo antinuclear.

El calibrador CYFRA 21-1 C(0) se enriqueció con citoqueratina 8 y citoqueratina 18. No se observó reactividad cruzada obvia, ya que todos los resultados fueron $\leq 0,5$ ng/ml. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Sustancia	Concentración de reactante cruzado	CYFRA 21-1 observada (ng/ml)	Criterios de aceptación
Citoqueratina 8	1000 ng/ml	0,03	CYFRA 21-1 observada
Citoqueratina 18	1000 ng/ml	0,04	$\leq 0,5$ ng/ml

El calibrador CYFRA 21-1 C(0) se enriqueció con otros marcadores tumorales, como alfa-fetoproteína (AFP), antígeno de cáncer 125 (CA(125)), antígeno de cáncer 15-3 (CA(15-3)), antígeno carbohidrato 19-9 (CA(19-9)), antígeno carcinoembrionario (CEA), antígeno de cáncer 72-4 (CA(72-4)), enolasa neuroespecífica (NSE), antígeno específico prostático (PSA) y ferritina (FERR) con niveles específicos indicados en la siguiente tabla.



No se observó reactividad cruzada obvia, ya que todos los resultados fueron $\leq 3,0$ ng. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Marcador tumoral	Concentración de reactante cruzado	CYFRA 21-1 observada (ng/ml)	Criterios de aceptación
AFP	1000 ng/ml	0,43	CYFRA 21-1 observada $\leq 3,0$ ng
CA 125	1000 U/ml	0,37	
CA 15-3	100 U/ml	0,36	
CA 19-9	1000 U/ml	0,47	
CEA	1000 ng/ml	0,34	
CA72-4	300 U/ml	0,44	
NSE	350 ng/ml	0,34	
PSA	100 ng/ml	0,01	
FERR	1000 ng/ml	0,44	

Efecto prozona

Para el ensayo de CYFRA 21-1 serie CL, no se observó efecto prozona con las muestras analizadas que contenían hasta 2000 ng/ml de CYFRA 21-1.

Exactitud

Para confirmar la exactitud de este ensayo, se realizó la prueba de recuperación respecto al enriquecimiento de la muestra. La muestra con niveles altos de CYFRA 21-1 se enriqueció en una muestra básica con un nivel bajo de CYFRA 21-1, con una proporción de volumen de 1:9. Los resultados mostraron que este ensayo tuvo una recuperación media de $100 \pm 15\%$. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Sin diluir CYFRA 21-1 (ng/ml)	Enriquecida CYFRA 21-1 (ng/ml)	Recuperación media
Baja: 2,12 Alta: 143,89	15,96	97,66%

Precisión

El ensayo de CYFRA 21-1 serie CL está diseñado para una precisión de $\leq 8\%$ (conforme al CV del dispositivo). La precisión se determinó siguiendo los estándares del protocolo EPS-A2 del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

Se probaron dos niveles de controles de calidad en duplicado en dos series independientes por día, durante un total de 20 días, usando un único lote de reactivo y una curva de calibración. Los datos de precisión se resumen en la siguiente tabla.

Muestra	Valor medio de CYFRA 21-1 (ng/ml)	Conforme al CV de la serie	CV interserial	Conforme al CV del dispositivo
1	4,56	1,62%	1,28%	1,72%
2	26,65	1,66%	1,24%	1,65%

Linealidad

Una muestra de CYFRA 21-1 de alta concentración (aproximadamente 500 ng/ml) se mezcló con una muestra de baja concentración ($< 0,1$ ng/ml) con diferentes proporciones, generando una serie de diluciones. La CYFRA 21-1 de cada dilución se determinó con el ensayo CYFRA 21-1 serie CL de Mindray. Se demostró que la linealidad se ajustaba al intervalo de 0.1 ng a 500 ng, y el coeficiente de correlación r es $\geq 0,990$. Los datos de linealidad se resumen en la siguiente tabla.

Concentración (ng/ml)	1	2	3	4	5	6
Valor previsto de CYFRA 21-1	0,06	106,07	212,02	317,96	423,90	529,84
Valor medido de CYFRA 21-1	0,06	111,44	195,78	331,46	454,86	529,84

Comparación de métodos

El ensayo de CYFRA 21-1 serie CL de Mindray se comparó con un kit de diagnóstico disponible comercialmente en un estudio de correlación con unas 1276 muestras. Los datos estadísticos obtenidos por el modo de cálculo Deming se resumen en la siguiente tabla.

Intervalo de concentración (ng/ml)	Pendiente	Origen	Coefficiente de correlación
0,1~500	1,0171	-0,1224	0,9953



Advertencias y precauciones

1. Exclusivo para uso diagnóstico in vitro.
2. Siga las reglas para manipular los reactivos de laboratorio y tome todas las precauciones de seguridad necesarias.
3. Debido a las diferencias de metodología y la especificidad de los anticuerpos, los resultados de los ensayos de la misma muestra pueden ser diferentes si se usan kits de reactivos de otros fabricantes en el sistema Mindray o si se usan kits de reactivos Mindray en otros sistemas.
4. No use kits de reactivos con la fecha de caducidad vencida.
5. No use reactivos mezclados de distintos lotes.
6. Mantenga el paquete de reactivos siempre en posición vertical para garantizar que no se pierdan micropartículas antes de su uso.
7. No se recomienda usar paquetes de reactivos abiertos más de 28 días.
8. La fiabilidad de los resultados del ensayo no se puede garantizar si no se siguen las instrucciones de este prospecto.
9. Los residuos de las reacciones y las muestras deben tratarse como riesgos biológicos potenciales. Las muestras y los residuos de las reacciones se manipularán conforme a las normativas y directrices locales.
10. La hoja de datos de seguridad de los materiales (MSDS) está disponible previa solicitud.

6. Takada M, Masuda N, Matsuura E, et al. Measurement of cytokeratin 19 fragments as a marker of lung cancer by CYFRA(21-1) enzyme immunoassay. Br J Cancer 1995, 71:160-165.
7. Maeda Y, Segawa Y, Takigawa N, et al. Clinical usefulness of serum cytokeratin 19 fragment as a tumor marker for lung cancer. Inter Med 1996, 35:764-771.
8. Pariente JL, Bordenave L, Michel PH, et al. Initial evaluation of CYFRA(21-1) diagnostic performance as a urinary marker in bladder transitional cell carcinoma. J Urol 2007, 158(11):338.
9. Morita T, Kikuchi T, Hashimoto S, et al. Cytokeratin-19 fragment (CYFRA(21-1)) in bladder cancer. Eur Urol 1997, 32(10):237-244.
10. Senga Y, Kimura G, Hattori T, et al. Clinical evaluation of soluble Cytokeratin 19 fragments (CYFRA(21-1)) in serum and urine of patients with bladder cancer. Urology 1996, 48(5):703-710.
11. Reinmuth N, Brandt B, Semik M, et al. Prognostic impact of CYFRA(21-1) and other serum markers in completely resected non-small cell lung cancer. Lung Cancer 2002, 36:265-270.
12. Boscatto LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988, 34:27-33.
13. Kricka L. Interferences in immunoassays - still a threat. Clin Chem 2000, 46:1037-1038.
14. Bjerner J, et al. Immunometric assay interference: incidence and prevention. Clin Chem 2002, 48:613-621.
15. CLSI. EPS-A2: Vol. 24, No. 25, Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Method; Approved Guideline - Second Edition.

© 2015 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd. Reservados todos los derechos.

Fabricante: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Dirección: Mindray Building, Keji 12th Road South, High-tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057 R.P. China

Dirección de correo electrónico: service@mindray.com

Sitio web: www.mindray.com

Tel.: +86-755-81888998

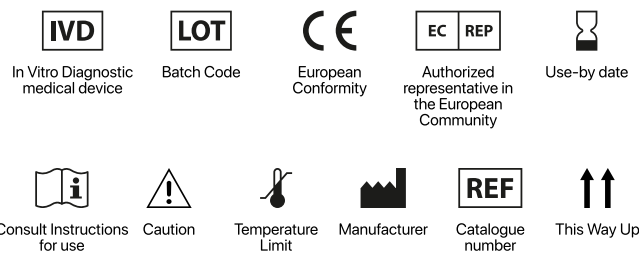
Fax.: +86-755-26582680

Representante de la CE: Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europa)

Dirección: Eiffestraße 80, Hamburg 20537, Alemania

Tel.: 0049-40-2513175

Fax.: 0049-40-255726



Referencias

1. Stieber P, Hasholzner U, Bodemüller H, et al. CYFRA(21-1). A new marker in lung cancer. Cancer 1993, 72(3):707-713.
2. Moll R, Franke WW, Schiller DL. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. Cell 1982, 31(1):11-24.
3. Debus E, Moll R, Franke WW, et al. Immunohistochemical distinction of human carcinomas by cytokeratin typing with monoclonal antibodies. Am J Pathol 1984, 114:121-130.
4. Bodemmueller H. The biochemistry of CYFRA(21-1) and other cytokeratin tests. Scand J Clin Lab Invest 1995, 221:60-66.
5. Pujol JL, Grenier J, Parrat E, et al. Cytokeratins as serum markers in lung cancer: a comparison of CYFRA(21-1) and TPS. Am J Respir Crit Care Med 1996, 154:725-33.

