

ProGRP (CLIA)

Información para pedidos

Número de catálogo	Tamaño del paquete
ProGRP111	2 × 50 ensayos
ProGRP112	2 × 100 ensayos

Uso Previsto

El ensayo de ProGRP serie CL es un ensayo quimioluminiscente (CLIA) para determinar de manera cuantitativa el ProGRP en suero o plasma humano que se utilizará como auxiliar en el tratamiento de pacientes con tumor maligno. No se recomienda el ensayo de ProGRP como un procedimiento de detección para detectar cáncer en la población general.

Resumen

El péptido liberador de gastrina (GRP) es una hormona del grupo neuropéptido que estimula la secreción de gastrina. McDonald et al. lo separaron por primera vez del tejido gástrico de cerdo en el año 1978. El GRP consta de 27 aminoácidos y se distribuye ampliamente en el tracto gastrointestinal, el sistema nervioso y el tracto respiratorio pulmonar de los mamíferos.¹⁻²

El GRP abunda en las células endocrinas del epitelio bronquial de lactantes, pero solo existe en el tejido nervioso y en pocas células endocrinas del sistema nervioso pulmonar de adultos en un nivel relativamente bajo. Las células de carcinoma pulmonar pueden producir y secretar GRP y regular su propio crecimiento a través de la comunicación autocrina. Como consecuencia, el GRP se considera un factor de crecimiento autónomo de células del carcinoma pulmonar microcítico (SCLC, del inglés small cell lung carcinoma).³⁻⁴ Sin embargo, el GRP es sumamente inestable y tiene un período de vida media en sangre de 2 minutos, lo que hace que sea muy difícil de detectar y medir de manera clínica. El ProGRP (31-98) es el precursor del GRP, una región carboxi-terminal común en tres tipos de variantes de empalme y que se expresa de manera estable en sangre.⁵⁻⁶

Varias investigaciones demostraron que los niveles séricos de ProGRP (31-98) sirvieron como un marcador confiable en pacientes con SCLC.⁷⁻¹⁰

Principio del ensayo

El ensayo de ProGRP serie CL es un ensayo de dos partes tipo sándwich.

En la primera parte, se agregan a la cubeta de reacción micropartículas paramagnéticas de muestra recubiertas con anticuerpo monoclonal anti-ProGRP (ratón) y anticuerpo monoclonal anti-ProGRP conjugado a la fosfatasa alcalina (ratón). Después de la incubación, el ProGRP presente en la muestra se une tanto a las micropartículas recubiertas con anticuerpo anti-ProGRP como al anticuerpo anti-ProGRP conjugado a la fosfatasa alcalina para formar un complejo tipo sándwich. La micropartícula se captura magnéticamente y las otras sustancias sin unir se eliminan por lavado.

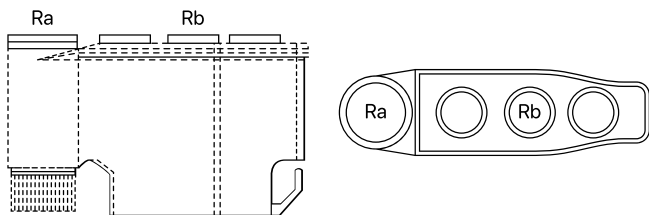
En el segundo paso, la solución de sustrato se añade al vaso de reacción. El anticuerpo anti-ProGRP (ratón) conjugado a la fosfatasa alcalina cataliza la solución en el inmunocomplejo que queda en la micropartícula. La reacción quimioluminiscente resultante se mide como unidades de luz relativas (RLU)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

Componentes del reactivo

Ra	Micropartículas paramagnéticas recubiertas con anticuerpo monoclonal anti-ProGRP (ratón) en el búfer TRIS con conservante.
Rb	Anticuerpo monoclonal anti-ProGRP conjugado a la fosfatasa alcalina (ratón) en el búfer MES 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 de ProGRP (CLIA) es estable sin abrir hasta la fecha de caducidad indicada si se almacena a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C.

El kit de reactivos de ProGRP (CLIA) se puede almacenar en el analizador y utilizar hasta un máximo de 28 días después de abierto si se mantiene a una temperatura de entre 2 °C y 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.ProGRP211: Calibradores de ProGRP: 1×1.2 ml para el calibrador C(0), 1×1.0 ml para cada calibrador C(1) y C(2).

N.º cat. ProGRPL311: Control de ProGRP (L), 3×2.0 ml.

N.º cat. ProGRPH311: Control de ProGRP (H), 3×2.0 ml.

N.º cat. ProGRPL312: Control de ProGRP (L), 6×2.0 ml.

N.º cat. ProGRPH312: Control de ProGRP (H), 6×2.0 ml.

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

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

Cat.No.CS512: Solución de sustrato, 4×75 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 y heparina de litio y suero humano.

Obtenga todas 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 todas las muestras para ver si hay burbujas. 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 hemolizadas. No use las muestras inactivadas con calor.

Las muestras se deben analizar con 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 mantendrán estables durante 3 días a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C, y durante 90 días a una temperatura de -20 °C.

Evite ciclos repetidos de congelación y descongelación. Se debe evitar someter las muestras a más de dos ciclos de congelación y descongelación.

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 de ProGRP (CLIA) en la máquina por primera vez, el frasco de reactivo sin abrir debe voltearse suavemente al menos 30 veces para volver a suspender las micropartículas que se asentaron 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 20 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

El ProGRP (CLIA) serie CL se estandarizó de acuerdo con una prueba de ProGRP comercial (CLIA).

La información específica de la curva de calibración principal del kit de reactivos de ProGRP (CLIA) se almacena en el código de barras bidimensional adherido al paquete de reactivos. Se utiliza junto con calibradores para calibrar el lote de reactivos específicos. Cuando realice la calibración, primero escanee la información de la curva de calibración principal del código de barras en el sistema y, a continuación, utilice los calibradores en los tres niveles.

Antes de realizar cualquier prueba de ProGRP, es necesario obtener una curva de calibración válida. Se recomienda repetir la calibración cada 28 días, cuando se utilice 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 control de ProGRP (L) de Mindray y control de ProGRP (H) de Mindray.

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 en 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 a partir de los calibradores de tres niveles de los valores de concentración definidos. Los resultados se muestran en unidades de pg/ml.

Dilución

Las muestras con concentraciones de ProGRP sobre el límite superior se pueden diluir con el diluyente de muestras de Mindray. La dilución recomendada es de 1:10 (ya sea manual o automática mediante el analizador).

La concentración de la muestra diluida debe ser > 50 pg/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 multiplica automáticamente el resultado por el factor de dilución cuando calcula la concentración de la muestra.

Valores esperados

Un estudio extenso en una cohorte de 380 hombres sanos y 370 mujeres sanas ha determinado el intervalo de referencia del ensayo de ProGRP serie CL.

ProGRP (pg/ml)			
Percentil 5*	Mediana	Percentil 95*	Percentil 97.5*
25.23	39.61	67.42	78.62

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 5,000 pg/ml. Una muestra con una concentración de ProGRP inferior al límite superior se puede determinar de manera cuantitativa, mientras que la muestra con una concentración mayor que el límite superior se notifica como >5,000 pg/ml.

La concentración de ProGRP 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, como síntomas, resultados de otras pruebas, historia clínica, etc.

Los anticuerpos heterófilos en suero o plasma pueden reaccionar con la inmunoglobulina en componentes reactivos para interferir en la prueba¹¹. Las muestras de los individuos que han sido expuestos a anticuerpos monoclonales de ratón podrían contener anticuerpos humanos antirratón (HAMA). Estas muestras podrían dar valores erróneamente elevados o bajos con los kits de ensayo que utilizan anticuerpos monoclonales de ratón.¹²
¹³ Sin embargo, en este ensayo no se han observado interferencias evidentes de HAMA.

Características de rendimiento

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 ProGRP (CLIA) es de 3-5,000 pg/ml (o el límite superior es de hasta 50,000 pg/ml para las muestras diluidas 10 veces).

Límites inferiores de medición

El kit de reactivos de ProGRP (CLIA) tiene un límite de espacio en blanco (LoB) de ≤ 2 pg/ml, un límite de detección (LOD) de ≤ 3 pg/ml y un límite de cuantificación (LOQ) de ≤ 7 pg/ml (con un total de error relativo admisible de ≤ 30 %).

Especificidad

Las concentraciones máximas de hemoglobina de 1,000 mg/dl, bilirrubina de 70 mg/dl, triglicéridos de 2,000 mg/dl y proteína total de 12.0 g/dl no interfieren en el ensayo de ProGRP serie CL.

Estas sustancias muestran interferencias inferiores al 10 % en las concentraciones indicadas.

No se observaron interferencias evidentes debido al factor reumatoideo hasta 500 IU/ml. Estas sustancias muestran interferencias inferiores al 15 % en las concentraciones indicadas.

Las pruebas de sustancias de interferencia se realizaron en 34 productos farmacéuticos de uso común. Estos compuestos mostraron menos de un 10 % de interferencia en el ensayo de ProGRP serie CL en los niveles que se indican a continuación.

Compuesto de prueba	Concentración de sustancias de interferencia
paracetamol	200 µg/ml
acetilcisteína	150 µg/ml
aspirina	1,000 µg/ml
ácido ascórbico	300 µg/ml
ciclosporina	5 µg/ml
heparina sódica	5,000 U/l
ibuprofeno	500 µg/ml
levodopa	20 µg/ml
metildopa	20 µg/ml
metronidazol	200 µg/ml
butazolidina	400 µg/ml
rifampicina	60 µg/ml
teofilina	50 µg/ml
Carboplatino	600 µg/ml
Cisplatino	180 µg/ml
Ciclofosfamida	500 µg/ml
Dexametasona	20 µg/ml
Docetaxel	112.5 µg/ml
Doxorrubicina	72 µg/ml
Erlotinib	150 µg/ml
Etopósido	300 µg/ml
Gifetini	250 µg/ml
Clorhidrato de gemcitabina	1,500 µg/ml
Ifosfamida	2,400 µg/ml
Lomustina	172.5 µg/ml

Continúa →



Metotrexato	150 µg/ml
Metoclopramida	7.5 µg/ml
Paclitaxel	330 µg/ml
Clorhidrato de topotecán	2.25 µg/ml
Sulfato de vincristina	3.0 µg/ml
Tartrato de vinorelloina	53.1 µg/ml
Gemcitabina	43.7 µg/ml
Irinotecán	11.5 µg/ml
Vinblastina	0.1 µg/ml

El calibrador C(0) de SCCA de Mindray se complementó con otros marcadores tumorales, tales 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), fragmento de citoqueratina 19 (CYFRA (21-1)), antígeno específico prostático (PSA) ferritina (FERR), antígeno carbohidrato 50, antígeno carbohidrato 242, proteína epididimal humana 4 (HE(4)) y ProGRP en los niveles específicos indicados en la siguiente tabla. No se observó reactividad cruzada obvia, ya que todos los resultados fueron ≤ 10.0 pg. Los resultados se indican en la tabla a continuación.

Marcador tumoral	Concentración de reactante cruzado	Valor informado de ProGRP (pg/ml)	Criterios de aceptación
AFP	1,000 ng	0.93	Valor informado de ProGRP ≤ 10.0 pg/ml
CA 125	1,000 U/ml	0.00	
CA 15-3	100 U/ml	0.00	
CA 19-9	1,000 U/ml	0.00	
CEA	1,000 ng	0.95	
CA(72-4)	300 U/ml	0.00	
NSE	350 ng	0.00	
CYFRA (21-1)	500 ng	0.00	
PSA	100 ng	0.00	
FERR	1,000 ng	0.00	
CA(50)	500 U/ml	6.79	
CA(242)	200 U/ml	1.65	
HE(4)	1,500 pmol/l	0.00	
SCCA	70 ng	0.00	

Efecto gancho de dosis alta

Para el ensayo de ProGRP serie CL, no se observó efecto gancho de dosis alta con cuando se analizaron las muestras que contienen hasta 100,000 pg/ml de ProGRP.

Exactitud

Para confirmar la exactitud de este ensayo, se realizó la prueba de recuperación con respecto al enriquecimiento de la muestra. Se enriquecieron dos muestras diferentes con niveles altos de ProGRP en una muestra básica que presenta un nivel bajo de ProGRP con una proporción de volumen de 1:9, respectivamente. Los resultados mostraron que este ensayo tuvo una recuperación media de 100 ± 15 %. Los resultados se enumeran en la siguiente tabla.

ProGRP sin diluir (pg/ml)	ProGRP enriquecido (pg/ml)	Recuperación media
Nivel bajo: 3.05	116.74	99.81 %
Nivel alto: 1,142.08		

Precisión

El ensayo de ProGRP serie CL está diseñado para tener una precisión de ≤ 8 % (en el CV del dispositivo). La precisión se determinó siguiendo los estándares del protocolo EP(5)-A(2)[(14)] 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 ProGRP (pg/ml)	En la ejecución del CV	Entre ejecución del CV	En el CV del dispositivo
1	44.88	2.35 %	3.03 %	4.35 %
2	587.23	6.88 %	1.85 %	2.20 %

Linealidad

Se mezcló una muestra de concentración alta de ProGRP (aproximadamente 5,000 pg/ml) con una muestra de concentración baja (< 3 pg/ml) con diferentes proporciones, lo que genera una serie de diluciones. El ProGRP de cada dilución se calculó mediante el ensayo de ProGRP serie CL de Mindray.



Se demostró que la linealidad se ajustaba al intervalo de 3 pg/ml a 5,000 pg/ml; el coeficiente de correlación r es ≥ 0.9900 .

Los datos de linealidad se resumen en la siguiente tabla.

Concentración (pg/ml)	1	2	3	4	5	6
Valor previsto de ProGRP	1.54	1006.13	2010.71	3015.30	4019.88	5024.47
Valor medido de ProGRP	1.54	1103.21	2215.36	2963.41	4125.36	5024.47

Comparación de métodos

El ensayo de ProGRP serie CL de Mindray se comparó con un kit de diagnóstico disponible comercialmente en un estudio de correlación. Los datos estadísticos obtenidos por el modo de cálculo Deming se muestran en la siguiente tabla.

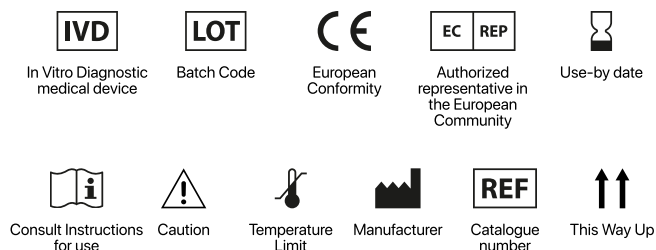
Intervalo de concentración (pg/ml)	Pendiente	Origen	r^2
2.62-4,856.14	0.9514	2.14	0.9864

Advertencias y precauciones

1. Exclusivo para uso diagnóstico in vitro.
2. Siga todas 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.



Referencias

1. Ischia J, Patel O, Shulkes A, et al. Gastrin-releasing peptide: Different forms, different functions. *Biofactors* 2009; 35: 69-75.
2. Yoshimura T, Fujita K, Kinukawa H, et al. Development and analytical performance evaluation of an automated chemiluminescent immunoassay for pro-gastrin releasing peptide (ProGRP). *Clin Chem Lab Med* 2009; 47(12): 1557-1563.
3. Yamaguchi K, Abe K, Kameya T, et al. Production and molecular size heterogeneity of immunoreactive gastrin-releasing peptide in fetal and adult lungs and primary lung tumors. *Cancer Res* 1983; 43: 3932-3939.
4. McDonald TJ, Nilsson G, Vagne M, et al. A gastrin releasing peptide from the porcine nonantral gastric tissue. *Gut* 1978; 19: 767-774.
5. Sausville EA, Lebacqz-Verheyden AM, Spindel ER, et al. Expression of the gastrin-releasing peptide gene in human small cell lung cancer. *J Biol* 1986; 261: 2451-2457.
6. Reeve JR, Cuttitta F, Vigna SR, et al. Multiple gastrin-releasing peptide gene-associated peptides are produced by a human small cell lung cancer line. *J Biol Chem* 1989; 264: 1928-1932. de Bruijn H.W.A., et al., The Clinical Value of Squamous cell Carcinoma Antigen in Cancer of the Uterine Cervix. *Tumor Biol* 1998; 19: 505-516.
7. Miyake Y, Kodoma T, Yamaguchi K. Pro-gastrin-releasing peptide ((31-98)) is a specific tumor marker in patients with small cell lung carcinoma. *Cancer Res* 1994; 54: 2136-2140.
8. Molina R, Filella X, Augé JM. ProGRP: A new biomarker for small cell lung cancer. *Clin Biochem* 2004; 37: 505-511. Kricka L. Interferences in immunoassays - still a threat. *Clin Chem* 2000; 46: 1037-1038.
9. Stieber P, Dinemann H, Schalhorn A, et al. Pro-gastrin-releasing Peptide (ProGRP) - a useful marker in small cell lung carcinomas. *Anticancer Res* 1999; 19: 2673-2678.
10. Molina R, Augé JM, Bosch X. Usefulness of Serum Tumor Markers, Including Progastrin-Releasing Peptide, in Patients with Lung Cancer: Correlation with Histology. *Tumor Biol* 2009; 30: 121-129.
11. Boscatto LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988; 34:27-33.
12. Kricka L. Interferences in immunoassays - still a threat. *Clin Chem* 2000; 46: 1037-1038.



13. Bjerner J y otros. Immunometric assay interference: incidence and prevention. Clin Chem. 2002; 48: 613-621.
14. CLSI. EP(5)-A(2): Vol. 24, n.º 25, Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Method; Approved Guideline –Segunda edición.

© 2018 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

