

MAGLUMI[®] TPA-snibe (CLIA)

USO PREVISTO

El kit es un inmunoensayo de quimioluminiscencia *in vitro* para la determinación cuantitativa de antígeno polipéptido de tejido (TPA-snibe) en suero humano mediante el uso del analizador para inmunoensayo de quimioluminiscencia completamente automático serie MAGLUMI (entre los que se encuentran Maglumi 600, Maglumi 800, Maglumi 1000, Maglumi 1000 Plus, Maglumi 2000, Maglumi 2000 Plus, Maglumi 4000, Maglumi 4000 Plus, MAGLUMI X8, MAGLUMI X3 y MAGLUMI X6) y el sistema integrado de la serie Biolumi (se incluyen Biolumi CX8).

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

Björklund y Björklund identificaron al antígeno polipéptido de tejido (TPA, del inglés tissue polypeptide antigen) como un potencial marcador tumoral en 1957¹. Se ha informado que la subunidad principal es un polipéptido monocatenario de 43 kD con un punto isoeléctrico a pH 4,5². Es una proteína relacionada con tumor originalmente aislada de extractos de tumores agrupados. El TPA está presente en los fragmentos proteolíticos de las citoqueratinas 8, 18 y 19, que se liberan en los líquidos corporales como signo de muerte celular¹⁻³. En el tejido normal, también se encontró TPA³⁻⁴. Se han descrito valores más altos de TPA para enfermedades hepáticas y procesos inflamatorios⁵⁻⁶. Algunos estudios han informado un incremento de la concentración de TPA en suero en pacientes con tumor⁷⁻¹⁰. El motivo puede ser un aumento de la destrucción celular acompañado de células tumorales invasivas^{6,11}. El antígeno polipéptido de tejido (TPA) se ha identificado en diversos tumores de carcinoma humano mediante anticuerpos dirigidos contra residuos insolubles de tumores humanos. La asignación monoclonal de TPA ha revelado 35 epítomos diferentes, incluidos 2 epítomos esenciales y 33 no esenciales¹². Se introdujo uno de los anticuerpos monoclonales, M3, como un marcador para determinar el epítomo esencial, TPS. El TPS se consideraba más específico que el TPA como indicador de la proliferación celular y con mayor capacidad de proporcionar información sobre el comportamiento del tumor¹³.

La elevación moderada del TPA se produce en algunos eventos benignos, como insuficiencia hepática, insuficiencia renal, diabetes mellitus y embarazo¹⁴. Se informa una elevación marcada de TPA en suero en una variedad de cánceres, como el de mama, pulmón, gastrointestinal, urológico y ginecológico; por lo tanto, los niveles de TPA en suero constituyen información valiosa como marcador de pronóstico y para supervisar el tratamiento de pacientes con carcinomas diferentes¹⁵.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El ensayo de TPA-snibe es un inmunoensayo de quimioluminiscencia sándwich.

La muestra (o calibrador o control, si corresponde), el aminobutiletilluminol (ABEI) marcado con anticuerpo monoclonal contra el antígeno polipéptido de tejido y las microperlas magnéticas recubiertas con otro anticuerpo monoclonal se mezclan completamente y se incuban, para formar complejos tipo sándwich. Después de la precipitación en un campo magnético, el sobrenadante se decanta y, luego, se realiza un ciclo de lavado. Posteriormente, se agregan los iniciadores 1 + 2 para iniciar una reacción quimioluminiscente. La señal luminosa se mide con un fotomultiplicador como unidades relativas de luz (RLU, del inglés relative light units), que es proporcional a la concentración de TPA presente en la muestra (o calibrador o control, si corresponde).

COMPONENTES DEL KIT

Material proporcionado

| Componentes | Contenido | 100 pruebas (REF: 130201007M) | 50 pruebas (REF: 130601007M) |
|-----------------------------------|--|----------------------------------|---------------------------------|
| Microperlas magnéticas | Microperlas magnéticas recubiertas con anticuerpo monoclonal anti-TPA, con contenido de albúmina sérica bovina (BSA, del inglés bovine serum albumin), NaN ₃ (< 0,1 %). | 2,5 ml | 2,0 ml |
| Calibrador bajo | Con contenido de BSA y antígeno polipéptido de tejido, NaN ₃ (< 0,1 %). | 3,0 ml | 2,0 ml |
| Calibrador alto | Con contenido de BSA y antígeno polipéptido de tejido, NaN ₃ (< 0,1 %). | 3,0 ml | 2,0 ml |
| Marca de ABEI | Anticuerpo monoclonal anti-TPA marcado con ABEI, con contenido de BSA, NaN ₃ (< 0,1 %). | 10,5 ml | 6,5 ml |
| Control de calidad interno | Con contenido de BSA y antígeno polipéptido de tejido, NaN ₃ (< 0,1 %). | 2,0 ml | 2,0 ml |

Todos los reactivos se entregan listos para usarse.

Accesorios necesarios, pero no suministrados

Serie MAGLUMI y Biolumi:

| | |
|-------------------------|------------------------------|
| Módulo de reacción | REF.: 630003 |
| Iniciador 1 + 2 | REF.: 130299004M, 130299027M |
| Concentrado para lavado | REF.:130299005M |
| Comprobación de luz | REF.:130299006M |
| Vaso de reacción | REF: 130105000101 |

Pida accesorios a Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd. (SNIBE) o a nuestros representantes autorizados.

CALIBRACIÓN

Trazabilidad: Este método se estandarizó de acuerdo con la sustancia de referencia interna de SNIBE.

La prueba de calibradores específicos de ensayo permite que los valores de RLU ajusten la curva principal asignada. Los resultados se determinan mediante una curva de calibración generada específicamente para el instrumento por calibración de dos puntos y una curva principal (10 calibraciones) proporcionada a través de un CHIP de identificación por radiofrecuencia (RFID, del inglés radio frequency identification) del reactivo.

Se recomienda recalibrar en las siguientes situaciones:

- Después de cada cambio de lotes (reactivo o iniciador 1 + 2).
- Cada dos semanas o cada vez que se utiliza un nuevo kit de reactivos (recomendado).
- Después de que se requiere mantenimiento de los instrumentos.
- Si los controles están fuera del rango esperado.

CONTROL DE CALIDAD

Siga los reglamentos gubernamentales o los requisitos de acreditación concernientes a la frecuencia de control de calidad.

El control de calidad interno solo es aplicable con el sistema MAGLUMI y Biolumi. Para obtener instrucciones de uso y valor objetivo, consulte **Información de control de calidad de TPA-snibe (CLIA)**. El usuario debe evaluar los resultados con sus propios estándares y conocimientos. Para información detallada sobre cómo ingresar los valores del control de calidad, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

Para supervisar el rendimiento del sistema y las tendencias del cuadro, se necesitan materiales de control de calidad disponibles comercialmente. Trate todas las muestras de control de calidad del mismo modo que las muestras del paciente. Se logra un nivel satisfactorio de rendimiento cuando los valores de analito obtenidos se encuentran dentro del rango de control aceptable para el sistema o dentro de su rango, según lo determinado por un esquema de control de calidad interna del laboratorio adecuado. Si los resultados del control de calidad no entran dentro de los valores esperados o dentro de los valores establecidos del laboratorio, no informe los resultados. Realice las siguientes acciones:

- Verifique que los materiales no hayan caducado.
- Verifique que se haya realizado el mantenimiento necesario.
- Verifique que el ensayo se haya realizado de acuerdo con las instrucciones de uso.
- Vuelva a ejecutar el ensayo con nuevas muestras de control de calidad.
- Si es necesario, comuníquese con sus distribuidores o los ejecutivos de soporte técnico locales para obtener asistencia.

PREPARACIÓN Y OBTENCIÓN DE MUESTRAS

- Utilice tubos de muestreo estándar o tubos que contengan gel de separación. Extraiga la sangre asépticamente luego de seguir las precauciones universales para la venopunción.
- Asegúrese de que la formación completa de coágulos en las muestras haya tenido lugar antes de la centrifugación. Algunas muestras, en particular las de los pacientes que reciben tratamiento anticoagulante o trombolítico, podrían tener un tiempo de coagulación mayor.
- Si la muestra se centrifuga antes de que se complete la coagulación, la presencia de fibrina puede producir resultados erróneos. Las muestras deben estar libres de fibrina y otras partículas.
- No use muestras hemolizadas o con marcada lipemia, ni tampoco muestras que contengan partículas o exhiban contaminación microbiana evidente. Inspeccione todas las muestras en busca de burbujas y elimínelas antes del análisis para obtener resultados óptimos.
- Evite congelar y descongelar las muestras reiteradamente. La muestra de suero puede congelarse y descongelarse una sola vez. Las muestras almacenadas deben mezclarse bien antes del uso (mezclador Vortex). Las muestras congeladas deben mezclarse **COMPLETAMENTE** después de la descongelación por agitación a BAJA velocidad. Pida más información a su representante local de SNIBE si tiene alguna duda.
- Las muestras centrifugadas con una capa lipídica en la parte superior deben trasladarse a un vaso de muestra o un tubo secundario. Se debe tener cuidado para transferir solo la muestra clarificada sin el material lipémico.
- Todas las muestras (muestras de pacientes o controles) deben analizarse en un plazo de tres horas después de colocarlas en el sistema MAGLUMI y Biolumi. Consulte el servicio de SNIBE para obtener información más detallada sobre las restricciones de almacenamiento de muestras.
- Las muestras retiradas del separador, los glóbulos rojos o el coágulo pueden almacenarse hasta 24 horas a una temperatura de entre 2 y 8 °C.
- Las muestras pueden almacenarse hasta 30 días congeladas a -20 °C o menos. Las muestras almacenadas deben mezclarse bien antes del uso (mezclador Vortex).
- Antes del envío de las muestras, se recomienda retirarlas del separador de suero, los glóbulos rojos o el coágulo. Al enviarse, las muestras deben embalarse y etiquetarse de conformidad con regulaciones estatales, federales e internacionales que abarquen el transporte de sustancias infecciosas y muestras clínicas. Las muestras deben enviarse congeladas.
- El volumen de muestra necesario para una sola determinación de TPA es de 80 µl.

ADVERTENCIA Y PRECAUCIONES PARA LOS USUARIOS

IVD

- Para usarse en diagnóstico *in vitro*.
- Siga el prospecto cuidadosamente. La confiabilidad de los resultados del ensayo no se puede garantizar si existe alguna desviación respecto de las instrucciones de este prospecto.

Precauciones de seguridad

- **PRECAUCIÓN:** Este producto requiere la manipulación de muestras humanas. Se recomienda que todos los materiales de origen humano se consideren potencialmente infecciosos y que se manipulen de conformidad con lo dispuesto en 29 CFR 1910.1030 Exposición ocupacional a patógenos transmitidos por la sangre. Se debe usar el nivel de bioseguridad 2 u otras prácticas de bioseguridad adecuadas para materiales que contienen agentes infecciosos o que se sospecha que los contienen.
- Todas las muestras, los reactivos biológicos y los materiales utilizados en el ensayo deben considerarse potencialmente capaces de transmitir agentes infecciosos. Por lo tanto, deben eliminarse de acuerdo con las prácticas de su institución. Deseche todos los materiales de manera segura y aceptable y en cumplimiento de los requisitos regulatorios imperantes.
- Este producto contiene azida de sodio. Los contenidos y recipientes deben desecharse en conformidad con todas las regulaciones locales, regionales y nacionales.
- Consulte las hojas de datos de seguridad que están disponibles a pedido.

Precauciones de manipulación

- No use kits de reactivos con la fecha de caducidad vencida.
- No intercambie los componentes de diferentes reactivos o lotes.
- Antes de cargar el kit de reactivos en el sistema por primera vez, el kit de reactivos se debe mezclar para volver a suspender las microperlas magnéticas que se asentaron durante el envío.
- Para obtener instrucciones sobre cómo mezclar microperlas magnéticas, consulte la sección Preparación del reactivo de este prospecto.
- Para evitar la contaminación, use guantes limpios cuando trabaje con un kit de reactivos y muestras.
- En el transcurso del tiempo, los líquidos residuales pueden secarse en la superficie septal. Estos son, generalmente, sales secas que no tienen ningún efecto sobre la eficacia del ensayo.
- Para obtener un análisis detallado de las precauciones de manipulación durante el funcionamiento del sistema, consulte la información de servicio de SNIBE.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Sellado: Almacenamiento a una temperatura de entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad.
- Apertura a entre 2 y 8 °C: La estabilidad mínima es de cuatro semanas.
- En el sistema: La estabilidad mínima es de cuatro semanas.
- Para asegurar el mejor rendimiento del kit, se recomienda colocar los kits abiertos en el refrigerador después de la finalización de los trabajos de prueba intradía. Es posible seguir utilizando el kit después del período de apertura o en el sistema si los controles se encuentran dentro de los rangos esperados.
- Se debe mantener en posición vertical para el almacenamiento y para facilitar la posterior resuspensión adecuada de las microperlas magnéticas.
- Se debe mantener alejado de la luz solar.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Preparación del reactivo

- La resuspensión de las microperlas magnéticas se realiza de forma automática cuando el kit se carga correctamente, de modo que las microperlas magnéticas se vuelvan a suspender totalmente de forma homogénea antes del uso.
- Para asegurar el desempeño adecuado del test, siga estrictamente las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente. Cada parámetro del test está identificado mediante un CHIP RFID en el kit del reactivo. Para más información, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

DILUCIÓN

La dilución de la muestra mediante el analizador no está disponible en este kit de reactivos.

Las muestras con concentraciones que estén por encima del rango de medición pueden diluirse manualmente. Después de la dilución manual, multiplique el resultado por el factor de dilución. Elija diluyentes aplicables o pida asesoramiento a SNIBE antes de la dilución manual.

LIMITACIONES

- Se requiere una técnica hábil y el cumplimiento estricto de las instrucciones para obtener resultados confiables.
- La contaminación bacteriana o la inactivación por calor de las muestras pueden afectar los resultados del examen.
- Un resultado dentro del rango esperado no descarta la presencia de la enfermedad, y debe interpretarse junto con el cuadro clínico del paciente y otros procedimientos de diagnóstico.
- El diagnóstico de una enfermedad no debe basarse en el resultado de una sola prueba, sino que debe determinarse en función de los hallazgos clínicos combinados con el criterio médico.
- Cualquier decisión terapéutica también debe tomarse caso por caso.
- Las muestras de los pacientes con anticuerpos humanos antirratón (HAMA, del inglés human anti-mouse antibodies) pueden mostrar un falso aumento o una falsa disminución de valores. Aunque se incorporan agentes neutralizantes de HAMA, las concentraciones de HAMA en suero extremadamente altas, en ocasiones, pueden influir en los resultados.

RESULTADOS

Cálculo de los resultados

El analizador calcula automáticamente la concentración de TPA-snibe en cada muestra mediante una curva de calibración que se genera con un procedimiento de curva principal de calibración de dos puntos. Los resultados se expresan en U/I. Para más información, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

Interpretación de los resultados

El rango esperado para el ensayo de TPA-snibe se obtuvo mediante la realización de pruebas con 90 personas aparentemente sanas en China, y dio los siguientes valores de referencia:

< 75 U/I (percentil 95).

Los resultados pueden diferir entre laboratorios debido a variaciones en la población y el método de prueba. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios rangos esperados.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Precisión

La precisión del ensayo de TPA-snibe se determinó como se describe en el documento EP5-A2 del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, del inglés Clinical & Laboratory Standards Institute). Se probaron tres grupos de suero humano y dos controles con diferentes concentraciones de analito en duplicado en dos ejecuciones independientes por día durante 20 días de pruebas. El resultado se resume en la siguiente tabla:

| Muestra | Media (U/I) (N = 80) | Dentro de la ejecución | | Entre ejecuciones | | Total | |
|------------------|-------------------------|------------------------|---------|-------------------|---------|----------|---------|
| | | SD (U/I) | % de CV | SD (U/I) | % de CV | SD (U/I) | % de CV |
| Grupo de suero 1 | 49,844 | 2,429 | 4,87 | 3,281 | 6,58 | 4,083 | 8,19 |
| Grupo de suero 2 | 504,740 | 17,636 | 3,49 | 7,202 | 1,43 | 19,261 | 3,82 |
| Grupo de suero 3 | 2007,994 | 55,271 | 2,75 | 12,323 | 0,61 | 56,629 | 2,82 |
| Control 1 | 100,526 | 5,044 | 5,02 | 3,164 | 3,15 | 5,954 | 5,92 |
| Control 2 | 242,059 | 9,964 | 4,12 | 8,171 | 3,38 | 12,886 | 5,32 |

Límite de blanco (LoB)

El LoB del ensayo de TPA-snibe es de 12,5 U/I.

Límite de detección (LoD)

El LoD del ensayo de TPA-snibe es de 15 U/I.

Rango de medición

12,5-6000 U/I (se define por el límite de blanco y el límite superior de la curva principal). Los valores que están por debajo del límite de blanco se observan como < 12,5 U/I. Los valores que están por encima del rango de medición se observan como > 6000 U/I.

Linealidad

El ensayo es lineal entre 15 U/I y 6000 U/I, sobre la base de un estudio realizado con la orientación del documento EP6-A del CLSI. Se prepararon nueve niveles de muestras distribuidos uniformemente por adición de una muestra de suero libre de TPA (0,0 U/I) a una muestra de suero que contenía 6600 U/I de TPA. La media de recuperación de la muestra osciló entre el 90 % y el 110 %.

Comparación de métodos

Se realizaron pruebas a un total de 110 muestras en el rango de 13,905 a 5825,132 U/l mediante el ensayo de TPA-snibe (y) y un inmunoensayo disponible comercialmente (x). Los datos de las regresiones lineales resultantes se resumen como: $y=0,952x+17,5346$, $r^2=0,986$.

Especificidad analítica

La especificidad del ensayo se obtuvo a través de la adición de CA 724 (1000 U/ml) y CA 242 (1000 U/ml) a las muestras de suero con las concentraciones indicadas. No se encontraron interferencias.

Interferencia endógena

Las sustancias hasta las siguientes concentraciones no interfirieron con el ensayo:

- Bilirrubina 40 mg/dl
- Hemoglobina 1000 mg/dl
- Triglicérido 2000 mg/dl

Referencias

1. Björklund, B. (1980). On the nature and clinical use of tissue polypeptide antigen (TPA). *Tumor Diagn Ther*, 1, 9-20.
2. Gion, M., Mione, R., Becciolini, A., Balzi, M., Correale, M., Piffanelli, A., & Fontanesi, M. (1993). Relationship between cytosol TPS, TPA and cell proliferation. *The International journal of biological markers*, 9(2), 109-114.
3. Nathrath, W. B., Heidenkummer, P., Björklund, V., & Björklund, B. (1985). Distribution of tissue polypeptide antigen (TPA) in normal human tissues: Immunohistochemical study on unfixed, methanol-, ethanol-, and formalin-fixed tissues. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 33(2), 99-109.
4. Kirsch, J., Oehr, P., & Winkler, C. (1983). LOCALIZATION OF TISSUE POLYPEPTIDE ANTIGEN IN INTERPHASE HELA-CELLS BY IMMUNOFLUORESCENCE MICROSCOPY. *TumorDiagnostik & Therapie*, 4(5-6), 222-224.
5. Maulard, C., Toubert, M. E., Chretien, Y., Delanian, S., Dufour, B., & Housset, M. (1994). Serum tissue polypeptide antigen (S-TPA) in bladder cancer as a tumor marker. A prospective study. *Cancer*, 73(2), 394-398.
6. Moraglio, D., Pagano, M., Galeazzi, D., Arnelli, A., & Bertero, L. (1994). Tissue polypeptide specific antigen (TPS) in liver disease. *Clinica chimica acta*, 224(2), 209-214.
7. Ecke, T. H., Lenk, S. V., Schlechte, H. H., & Loening, S. A. (2003). Tissue polypeptide antigen (TPA) in comparison with mutations of tumour suppressor gene P53 (TP53) in patients with bladder cancer. *Anticancer research*, 23(2A), 957-962.
8. Filella, X., Menendez, V., Molina, R., Alcover, J., Carretero, P., & Ballesta, A. M. (1996). TPA prognostic value in superficial bladder cancer. *Anticancer research*, 16(4B), 2173-2175.
9. Maulard-Durdux, C., Toubert, M. E., Hennequin, C., & Housset, M. (1997). Serum tissue polypeptide antigen in bladder cancer as a tumor marker: a prospective study. *Journal of clinical oncology*, 15(12), 3446-3450.
10. López, V. M., Galán, J. A., Fernández-Suárez, A., López-Celada, S., Alcover, J., & Filella, X. (2003). Usefulness of tissue polypeptide antigen in the follow-up of bladder cancer. *Urology*, 62(2), 243-248.
11. Silén, Å., Wiklund, B., Andersson, E. L., & Nilsson, S. (1995). A novel IRMA and ELISA for quantifying cytokeratin 8 and 18 fragments in the sera of healthy individuals and cancer patients. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*, 55(2), 153-161.
12. Tu, D. G., Wang, S. T., Chang, T. T., Chiu, N. T., & Yao, W. J. (1999). The value of serum tissue polypeptide specific antigen in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Cancer*, 85(5), 1039-1043.
13. Björklund, B., Björklund, V., Brunkener, M., Grönlund, H., & Back, M. (1987). The enigma of a human tumor marker: TPA revisited. *Human tumor markers*, 187, 169-180.
14. Tramonti, G., Ferdeghini, M., Donadio, C., Norpoth, M., Annichiarico, C., Bianchi, R., & Bianchi, C. (2000). Renal function and serum concentration of five tumor markers (TATI, SCC, CYFRA 21-1, TPA, and TPS) in patients without evidence of neoplasia. *Cancer detection and prevention*, 24(1), 86-90.
15. Malati, T. (2007). Tumour markers: An overview. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 22(2), 17-31.



Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd.

No.23, Jinxiu East Road, Pingshan District, 518122 Shenzhen, P.R. China

Tel.: +86-755-21536601 Fax: +86-755-28292740



Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europa)

Eiffestrasse 80, 20537 Hamburg, Germany

Tel.: +49-40-2513175 Fax: +49-40-255726

EXPLICACIÓN DE SÍMBOLOS

| | | | |
|--|--|--|--|
| | Consulte las instrucciones de uso | | Fabricante |
| | Límite de temperatura (Almacenar a una temperatura de entre 2 y 8 °C) | | Fecha de caducidad |
| | Contiene suficiente para | | Mantener alejado de la luz solar |
| | Este lado hacia arriba | | Representante autorizado en la Comunidad Europea |
| | Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i> | | Componentes del kit |
| | Número de catálogo | | Código de lote |