

AFP

Alpha-fetoprotein (CLIA)

Uso previsto

Inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA) para la determinación cuantitativa de alfafetoproteína (AFP) en suero o plasma

Significación clínica

La alfafetoproteína (AFP) es una alfa globulina específica del embrión. Es una glicoproteína de cadena polipeptídica única con un peso molecular de aproximadamente 70.000 daltons. Es la proteína principal de la circulación fetal, así como la albúmina. La síntesis de AFP se produce principalmente en el saco vitelino, hígado y tracto gastrointestinal del feto. Se puede detectar en la circulación fetal a los 30 días de gestación. Alcanza un pico aproximadamente a las 13 semanas de gestación y disminuye gradualmente a partir de ahí. Se encuentran niveles elevados de AFP durante el embarazo y en varias enfermedades malignas. Se pueden detectar niveles elevados de AFP en aproximadamente un 80% de pacientes con carcinoma hepático y un 50% de pacientes con tumores de células germinales. También se puede detectar en otros pacientes con tumores gastrointestinales. La síntesis de AFP es elevada en los carcinomas hepáticos, incluso aunque el cuerpo del carcinoma sea muy pequeño. Esto permite una detección temprana de AFP, junto con algunas otras pruebas. También se ha descubierto que la AFP es elevada en enfermedades como hepatitis viral aguda, hepatitis activa crónica y cirrosis, pero no tan elevada como en el carcinoma hepático. El nivel de AFP en suero en pacientes con cirrosis suele estar entre 25 y 200 ng/mL. El nivel elevado de AFP normalmente acompaña a un nivel elevado de transaminasas. Si el nivel de AFP en suero es elevado mientras que el nivel de transaminasas es reducido, o bien el nivel de AFP es superior a 500 ng/mL, es muy posible que exista un carcinoma hepático.

Fundamentos del método

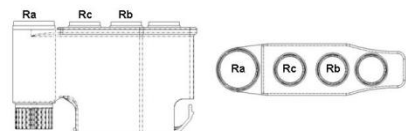
Alpha-fetoprotein (CLIA) es un ensayo sandwich para la determinación cuantitativa de AFP en suero o plasma.

En el primer paso se agregan a una cubeta de reacción: muestra, micropartículas paramagnéticas recubiertas con anticuerpo anti-AFP y conjugado anti-AFP-fosfatasa alcalina. Luego de la incubación, el complejo sandwich formado ante la presencia de AFP es capturado magnéticamente. Las sustancias no fijadas se eliminan mediante sucesivos lavados. En el segundo paso, se añade la solución de sustrato (Substrate Solution) a la cubeta de reacción. La reacción quimioluminiscente producida por el conjugado se mide como unidades relativas de luz (RLU). La cantidad de AFP presente en la muestra es directamente proporcional a las RLU generadas durante la reacción. La concentración de AFP se determina mediante una curva de calibración.

Reactivos provistos

Ra	Micropartículas paramagnéticas recubiertas de anticuerpo monoclonal anti-AFP en buffer TRIS.
Rb	Conjugado de anticuerpo monoclonal anti-AFP y fosfatasa alcalina en buffer PBS.
Rc	Buffer TRIS.

La posición de los componentes del kit se muestra en la siguiente figura:



Reactivos no provistos

- AFP Calibrators
- Tumor Marker Multi Control (L)
- Tumor Marker Multi Control (H)
- Wash Buffer
- Substrate Solution

Estos reactivos son provistos separadamente por Wiener lab.

Instrucciones para su uso

Los reactivos son listos para usar

Precauciones

- Para uso diagnóstico "in vitro".
- Mantener el kit de reactivos en posición vertical para asegurar que no se pierdan micropartículas antes del uso.
- No utilizar reactivos de otro origen.
- No utilizar reactivos después de la fecha de vencimiento.
- No intercambiar reactivos de distintos lotes.
- Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.
- Utilizar los reactivos respetando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio bioquímico.
- Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

Estabilidad e instrucciones de almacenamiento

El kit es estable a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Material requerido (no provisto)

Analizador de quimioluminiscencia Wiener lab. CLIA series

Muestra

Suero o plasma

a) Recolección: obtener la muestra de la

manera habitual.

b) Aditivos: en caso de utilizar plasma, se recomienda el uso de EDTA, heparina sódica o heparina de litio como anticoagulantes.
c) Centrifugar las muestras y separar el suero o plasma antes de las dos horas.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: las muestras deben ser preferentemente frescas. Si no se procesan dentro de las 8 horas posteriores a la recolección, deben conservarse bien tapadas y refrigeradas a 2-8°C. Si el ensayo se posterga por más de 72 horas, las muestras deben ser congeladas a -20°C o menos.

Evitar los ciclos de congelado y descongelado.

Procedimiento

Antes de cargar los reactivos en el analizador se debe invertir suavemente el frasco de reactivos sin abrir por lo menos 30 veces para resuspender las micropartículas sedimentadas durante el almacenamiento. Realizar una inspección visual del frasco para asegurar la resuspensión de las micropartículas. Si las mismas continúan adheridas al frasco, seguir invirtiéndolo hasta su resuspensión completa. Si aún así las micropartículas no se resuspenden, se recomienda desechar el frasco.

El ensayo requiere 15 µL de muestra. En este volumen no se incluye el volumen muerto del contenedor de muestras.

Calibración

El kit **Alpha-fetoprotein (CLIA)** ha sido estandarizado de acuerdo con el estándar internacional de la OMS de alfafetoproteína (código NIBSC: AFP).

La información específica de la curva maestra de calibración está contenida en el código bidimensional provisto. Se utiliza junto con los calibradores para la calibración del lote de reactivo específico. Al realizar la calibración, se debe escanear primero la información de la curva maestra de calibración del código bidimensional en el sistema. A continuación, utilizar los calibradores a tres niveles. Se requiere una curva de calibración válida antes de cualquier prueba de AFP. Se recomienda una recalibración cada 4 semanas, cuando se utilice un nuevo lote de reactivos o los controles de calidad no se encuentren dentro de los intervalos especificados. Para obtener información detallada sobre la calibración, consulte el manual de funcionamiento del analizador.

Control de calidad

Tumor Marker Multi Control (L) y **Tumor Marker Multi Control (H)** de Wiener lab.

Cálculo de los resultados

El analizador calcula automáticamente la concentración de analito de cada muestra a partir de la curva maestra de calibración leída del código bidimensional y un ajuste de la curva logística de 4 parámetros (4PLC) con las RLU generadas por los 3 niveles de calibradores. Los resultados se muestran en ng/mL.

Factores de conversión:

ng/mL x 0,83 = UI/mL

UI/mL x 1,21 = ng/mL

Valores esperados

En un estudio realizado sobre una población de 736 individuos sanos (345 hombres y 391 mujeres) se obtuvo el siguiente intervalo de referencia:

Categoría	N	Percentilo 97,5%
Hombre	345	< 7,2 ng/mL
Mujer	391	< 7,4 ng/mL
Total	736	< 7,0 ng/mL

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio intervalo de referencia.

Limitaciones del procedimiento

El kit no está diseñado para la evaluación de riesgo de la trisomía 21.

El límite superior del ensayo es de 1210 ng/mL. Se puede determinar cuantitativamente una muestra con una concentración de AFP inferior al límite superior, pero una muestra con una concentración mayor que el límite superior se informará como >1210 ng/mL.

La concentración de AFP en una muestra ensayada con distintos kits comerciales, puede variar debido a diferencias en los métodos de ensayo, calibración y especificidad de los reactivos. Los resultados del ensayo se deben utilizar junto con otros datos, como síntomas, resultados de otras pruebas, historia clínica, etc.

Muestras de individuos expuestos a anticuerpos monoclonales de ratón pueden contener anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA). Estas muestras pueden mostrar valores falsamente elevados o bajos con kits que utilicen anticuerpos de ratones monoclonales. Sin embargo, no se observaron interferencias evidentes de HAMA en este ensayo.

Performance

a) Sensibilidad analítica: ≤0,5 ng/mL.

b) Rango de medición: 0,5 - 1210 ng/mL.

c) Especificidad:

- No se observan interferencias por hemoglobina hasta 500 mg/dL, bilirrubina hasta 20 mg/dL, triglicéridos hasta 520 mg/dL, proteínas totales hasta 10,0 g/dL, factor reumatoide hasta 1500 UI/mL ni anticuerpo antinuclear hasta 4000 UI/L.

- No se observó reactividad cruzada significativa cuando se añadieron al calibrador C0 de **AFP Calibrators** las sustancias indicadas en la tabla siguiente. Los resultados no mostraron diferencias de más de 2,0 ng/mL en el ensayo de AFP con los niveles indicados.

Sustancia	Concentración
HCG	1000 mUI/mL
α-1-glicoproteína ácida	2 mg/mL
Transferrina	400 mg/dL

α-1-antitripsina	500 mg/dL
Prolactina	50.000 mUI/mL

- Se llevaron a cabo pruebas de interferencia con fármacos utilizados habitualmente. Estos compuestos mostraron una interferencia inferior al 10% en el ensayo de AFP con los niveles indicados a continuación.

Compuesto	Concentración
Acetaminofeno	200 µg/mL
Ácido acetilsalicílico	0,50 mg/mL
Cisplatina	100 µg/mL
Ácido ascórbico	1000 µg/mL
Ciclofosfamida	25 mg/dL
Vincristina	70 mg/dL

- El calibrador C0 de **AFP Calibrators** de Wiener lab. se complementó con otros marcadores tumorales indicados en la tabla siguiente. No se observó reactividad cruzada evidente, dado que todos los resultados fueron ≤5,0 ng/mL

Marcador tumoral	Concentración	AFP obtenida (ng/mL)	Criterio de aceptación
PSA	100 ng/mL	0,00	AFP obtenida ≤5,0 ng/mL
CA 125	1000 UI/mL	0,01	
CA 15-3	100 UI/mL	0,01	
CA 19-9	1000 UI/mL	0,00	
CEA	1000 ng/mL	0,00	
FERR	1000 ng/mL	4,61	

d) Efecto prozona: no se observó efecto prozona hasta 120.000 ng/mL de AFP.

e) Exactitud:

Se utilizó una muestra del estándar internacional de la OMS de alfafetoproteína (código NIBSC: AFP) con un valor definido y trazable para verificar la exactitud del ensayo. Los resultados mostraron que la desviación relativa era inferior a ±10%. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Muestra	AFP medida (ng/mL)	AFP definida (ng/mL)	Desvío relativo
AFP de la OMS	112,64	116,83	-3,59%

f) Precisión:

La precisión se determinó mediante el protocolo EP5-A2 del Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico (NCCLS). Se probaron dos niveles de controles de calidad por duplicado en dos series independientes por día, durante un total de 20 días.

Muestra	AFP media (ng/mL)	CV intra-ensayo	CV inter-ensayo	CV Total
1	10,32	2,92%	3,17 %	4,57 %
2	104,22	2,99%	2,52 %	3,98 %

g) Linealidad: la reacción es lineal entre 0,5 y

400 ng/mL

h) Correlación:

El kit **Alpha-fetoprotein (CLIA)** de Wiener lab. se comparó con un kit comercial de características similares, utilizando 1287 muestras. Los datos estadísticos obtenidos se muestran en la siguiente tabla.

Intervalo de concentración (ng/mL)	Pendiente	Intersección	Coefficiente de correlación
0,13-1476,15	0,949	0,115	0,996

Presentaciones

- 2 x 50 tests (cód. 1001012)
- 2 x 100 tests (cód. 1001013)

Referencias

- Ruoslahti E, Seppala M. Studies of carcino-fetal proteins: physical and chemical properties of human a-fetoprotein. Int. J. Cancer 1971; 7: 218.

- Palomaki GE, Hill LE, Knight GJ, et al. Second Trimester Maternal Serum Alpha-Fetoprotein Levels in Pregnancies Associated with Gastroschisis and Omphalocele. Obstet Gynecol 1988; 71:906-9.

- Gitlin D, Perricelli A, Gitlin GM. Synthesis of a-fetoprotein by liver, yolk sac, and gastrointestinal tract of the human conceptus. Cancer Res 1972; 32: 979.

- Nelson LH, Bensen J, Burton BK. Outcomes in Patients with Unusually High Maternal Serum Alpha-fetoprotein Levels. Am J Obstet Gynecol 1987; 157(3):572-5.

- Taketa K. Alpha-Fetoprotein in the 1990s. En: Sell SS. Serological cancer markers. Humana Press 1992: 31-46, ISBN: 0-89603-209-4.

- Silver HKB, Gold P, Feder S, Freedman SO, Shuster J. Radioimmunoassay for human alpha-fetoprotein. Proc Natl Acad Sci U.S.A. 1973; 70: 526-30.

- Perlin E, Engeler JE, Edson M, Karp D, McIntire KR, Waldmann TA. The value of serial measurement of both human chorionic gonadotropin and alpha-fetoprotein for monitoring germinal cell tumors. Cancer 1976; 37: 215-9.

- Endo Y, Kanai K, Oda T, Mitamura K, Iino S, Suzuki H. Clinical significance of a-fetoprotein in hepatitis and liver cirrhosis. Ann NY Acad Sci 1975; 259: 234.

- NCCLS. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement method; approved guideline-second edition. 2004.

SÍMBOLOS

CE Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

EC REF Representante autorizado en la Comunidad Europea

Elaborado por

MD Uso diagnóstico "in vitro"

Consultar instrucciones de uso

Este lado arriba

Límite de temperatura (conservar a)

LOT Número de lote

Fecha de caducidad

REF Número de catálogo

Riesgo biológico

Cont. Contenido

SHENZHEN MINDRAY BIO-MEDICAL ELECTRONICS CO., LTD.
Mindray building. Keji 12th Road South. Hi-tech Industrial Park.

Fabricado para:
Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 Rosario - Argentina
http://www.wiener-lab.com
Producto Autorizado por A.N.M.A.T.
Cert. Nº
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica