

AFP**Alfafetoproteína (CLIA)****Informações do pedido**

Número do catálogo	Tamanho da embalagem
AFP111	Testes 2x50
AFP112	Testes 2x100
AFP113	Testes 2x30

Uso pretendido

O ensaio AFP da série CL é um Imunoensaio quimioluminescente (CLIA) para determinação quantitativa de alfa-fetoproteína (AFP) em soro humano ou plasma.

Resumo

Alfafetoproteína (AFP) é uma alfa-globulina específica do embrião e com um único polipeptídeo de glicoproteínas com um peso molecular de 70.000 daltons. É a principal proteína na circulação fetal, bem como a albumina. A síntese da AFP ocorre principalmente no trato do saco vitelino, fígado e gastro-intestinal do feto.¹ É segregada para o soro fetal e pode ser detectado na circulação fetal tão precocemente quanto até 30 dias após a gestação. Ela atinge um pico em cerca de 13 semanas de gestação e gradualmente declinando em seguida.^{2,3} Níveis séricos elevados de AFP, posteriormente reaparecem durante a gravidez e em conjunto com diversas doenças malignas.^{2,4} Níveis de AFP elevados no soro podem ser detectados em cerca de 80% dos pacientes com carcinoma hepático e 50% dos pacientes com tumores de células germinativas. Também pode ser detectada em outros pacientes, tais como pacientes com tumor gastro-intestinal. A síntese da AFP é, obviamente, elevada no carcinoma hepático embora o *corpus carcinosus* seja muito pequeno.

Assim, o carcinoma hepático pode ser detectado tão cedo quanto possível, por detecção de AFP, em conjunto com alguns outros testes.^{5,6} A AFP sérica também foi encontrada em níveis elevados durante a gravidez, em doenças tais como a hepatite viral aguda, hepatite crônica ativa e cirrose, mas não tão elevada como no carcinoma hepático. O nível de AFP no soro de pacientes com cirrose é geralmente entre 25 e 200 ng/mL, e diminui gradualmente com o aumento da boa condição dos pacientes com 2 meses. O elevado nível de AFP sérica geralmente acompanha uma elevado nível das transaminases. Se o nível da AFP no soro for elevado, enquanto o nível das transaminases for menor, ou o nível da AFP no soro for superior a 500 ng/mL, é altamente sugestivo de carcinoma hepático.^{6,7,8}

Teste de AFP não é recomendado como um procedimento de triagem para detectar câncer na população em geral.

Princípio do ensaio

O ensaio de AFP da série CL é um ensaio sanduíche de dois locais para determinar o nível de AFP.

No primeiro passo, a amostra, as micropartículas paramagnéticas revestidas com anticorpo monoclonal anti-AFP de rato e anticorpos anti-AFP monoclonal do rato conjugado de fosfatase alcalina marcada são adicionados em um recipiente de reação. Após a incubação, a AFP presente na amostra liga-se às micropartículas revestidas de anticorpos anti-AFP monoclonais do rato. Enquanto

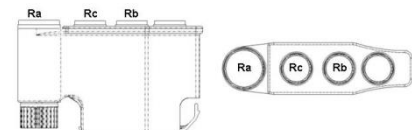
isso, o anticorpo monoclonal de rato anti-AFP conjugado de fosfatase alcalina do anticorpo marcado liga-se a um outro local da reação da AFP para formar um complexo de sanduíche. As micropartículas são fixadas magneticamente enquanto outras substâncias não ligadas são removidas por lavagem.

No segundo passo, a solução de substrato é adicionada ao recipiente de reação. Ela é catalisada por anticorpo anti-AFP do rato conjugado de fosfatase alcalina no imunocomplexo retido na micropartícula. A reação de quimioluminescência resultante é medida como unidades relativas de luz (RLU) por um fotomultiplicador incorporado no sistema. A quantidade de AFP presente na amostra é proporcional às unidades relativas de luz (RLUs) geradas durante a reação. A concentração de AFP pode ser determinada através de uma curva de calibração.

Componentes do reagente

Ra	micropartícula paramagnética revestida com anticorpo monoclonal anti-AFP (rato) em tampão de TRIS com conservante.
Rb	Anticorpo anti-AFP monoclonal (rato)-fosfatase alcalina conjugado em tampão de PBS com conservante.
Rc	Tampão de TRIS com conservante.

A posição de cada componente do reagente é mostrada na figura abaixo (vista frontal à esquerda e vista de cima à direita):

**Armazenamento e estabilidade**

O kit de reagentes de AFP fechado (CLIA) é estável até a data de validade indicada, quando armazenados a 2-8°C.

O kit de reagentes de AFP (CLIA) pode ser armazenado a bordo e usado por no máximo 56 dias após a abertura a 2-8°C.

Preparação do reagente

Ra: Pronto para usar

Rb: Pronto para usar

Rc: Pronto para usar

Materiais necessários, mas não fornecidos

Analizador de Imunoensaio por Quimioluminescência Série CL Mindray

Número do catálogo AFP211/AFP212: Calibradores de AFP Mindray, 1x2,0 mL para cada calibrador C0, C1 e C2/1x1,2 mL C0, 1x1,0 mL C1 e 1x1,0 mL C2.

N.º do cat. TML321/TML322/TML323/TML324: Multicontrolado do Marcador de Tumor (L), 1x5,0 mL/3x5,0 mL/6x5,0 mL/12x5,0 mL.

N.º do cat. TMH321/TMH322/TMH323/TMH324: Multicontrolado do Marcador de Tumor (H), 1x5,0 mL/3x5,0 mL/6x5,0 mL/12x5,0 mL.

N.º do cat. WB411: Tampão de Lavagem Mindray, 1x10 L.

N.º do cat. CS511/CS512: Solução de Substrato Mindray, 4x115 MI/4x75 MI.

Recipientes de Reação Mindray

Instrumento aplicável

Analizador de Imunoensaio de Quimioluminescência Mindray Série CL.

Coleta e Preparação do Espécime

O soro ou plasma humano colhido em EDTA, heparina lítica e ou sódica são recomendados para este ensaio.

Centrifugue as amostras após a formação do coágulo ser finalizada. Transfira os sobrenadantes para dentro de tubos para armazenamento ou teste dentro de duas horas após a centrifugação.

As amostras devem ser testadas o mais rápido possível após sua coleta. Se o teste não for concluído dentro de 8 horas, as amostras devem ser bem fechadas e refrigerada a 2-8°C. Se o teste atrasar mais de 72 horas, as amostras devem ser congeladas a -20°C ou menos.

Evite ciclos de congelamento e descongelamento repetidos.

Procedimento do ensaio

Para um melhor desempenho deste ensaio, os operadores devem ler o manual de operação do sistema relacionado com cuidado, para obter informações suficientes, tais como instruções de operação, manutenção e gerenciamento de amostras, medidas de segurança e manutenção. Prepare todo o material necessário para esse ensaio também.

Antes de carregar o kit de reagentes de AFP (CLIA) na máquina pela primeira vez, o frasco de reagente fechado deve ser invertido suavemente por pelo menos 30 vezes para ressuspender as micropartículas que se assentaram durante o transporte ou armazenamento. Inspeção visualmente o frasco para assegurar que as micropartículas foram novamente suspensas. Se as micropartículas permanecerem aderidas ao frasco, continue invertendo até que as micropartículas sejam completamente ressuspensas. Se as micropartículas não puderem ser novamente suspensas, recomenda-se não usar este frasco de reagente. Entre em contato com o Serviço ao Cliente Mindray. Não inverta o frasco de reagente aberto.

Este ensaio necessita de 15 µL de amostra para um único teste. Esse volume não inclui o volume morto do recipiente da amostra. Volume adicional é necessário para a realização de testes adicionais da mesma amostra. Os operadores devem consultar o manual de operação do sistema e requisitos específicos do ensaio para determinar o volume mínimo da amostra.

Calibração

O AFP da série CL (CLIA) foi padronizado em conformidade com o Padrão Internacional da OMS para alfafetoproteína (código NIBSC: AFP). A informação específica de curva de calibração principal do kit de reagentes de AFP (CLIA) é armazenada no código de barras bidimensional anexado à embalagem do reagente. É usado em conjunto com os calibradores para a calibração do lote de reagentes específico. Ao realizar a calibração, primeiro digitalize a informação da curva de calibração principal a partir do código de barras no sistema, e, em seguida, use os calibradores em

três níveis. Curva de calibração válida é necessária antes de qualquer teste de AFP. A recalibração é recomendada a cada quatro semanas, ou quando um novo lote de reagentes for usado, ou quando os controles de qualidade estiverem fora do intervalo especificado. Para instruções detalhadas de calibração, consulte o manual de operações do sistema.

Controle de qualidade

Recomenda-se que os controles de qualidade sejam executados uma vez a cada 24 horas, se os testes estiverem em uso, ou após cada calibração. A frequência de controle de qualidade deve ser adaptada às necessidades individuais de cada laboratório. Os dois níveis recomendados de controle de qualidade para este ensaio são Multicontrolado de Marcador Tumoral Mindray (L) e Multicontrolado de Marcador Tumoral (H).

Os resultados do controle de qualidade devem estar dentro do intervalo aceitável. Se um controle estiver fora de seu intervalo especificado, os resultados do teste associado serão inválidos e as amostras deverão ser testadas novamente. A recalibração pode ser necessária, examine o sistema de ensaio observando o manual de operação do sistema. Se os resultados do controle de qualidade continuar fora do intervalo especificado, entre em contato com o Atendimento ao Cliente Mindray para obter ajuda.

Cálculo

O analisador calcula automaticamente a concentração do analito de cada amostra na curva de calibração principal lida a partir do código de barras, e um Conjunto de Curva Logística de 4 Parâmetros (4PLC) com as unidades relativas de luz (RLUs) geradas a partir dos valores de concentração dos três níveis de calibradores definidos. Os resultados são mostrados em ng/mL.

Fatores de conversão: ng/mL x 0,83 = IU/mL
IU/mL x 1,21 = ng/mL

Diluição

Amostras com concentrações de AFP acima do limite superior podem ser diluídas com o Diluente da Amostra da Mindray. A diluição recomendada é 1:40 (realizada manualmente ou automaticamente pelo analisador). A concentração da amostra diluída deve ser > 10 ng/mL. Após a diluição manual, multiplique o resultado pelo fator de diluição. Após a diluição automática realizada pelo analisador, o sistema multiplica automaticamente o resultado pelo fator de diluição ao calcular a concentração da amostra.

Valores esperados

Um extenso estudo sobre um corte de 736 indivíduos saudáveis (345 homens e 391 mulheres) determinou o intervalo de referência do ensaio de AFP da série CL.

Categoria	N	Limite superior de do intervalo central de 95%
Masculino	345	7,2 ng/mL
Feminino	391	7,4 ng/mL
Total	736	7,0 ng/mL

Devido à variação de geografia, raça, sexo e idade, é altamente recomendável que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

Limitações

Este kit NÃO se destina a ser utilizado para a avaliação do risco de trissomia 21.

O limite superior deste ensaio é 1210 ng/dL. Uma amostra com uma concentração de AFP menor do que o limite superior pode ser determinada quantitativamente, enquanto que uma amostra com uma concentração maior do que o limite superior será avaliada como >1210 ng/mL ou diluindo as amostras com o Diluente da Amostra da Mindray. A concentração de AFP numa dada amostra, determinada com ensaios de diferentes fabricantes, pode variar devido a diferenças nos métodos de ensaio, calibração e especificidade dos reagentes. Os resultados do ensaio devem ser utilizados em conjunto com outros dados, tais como sintomas, resultados de outros testes, histórico clínico, etc. Espécime de indivíduos que foram expostos a anticorpos monoclonais de camundongo podem conter anticorpos anti-rato humanos (HAMA). Estas amostras podem apresentar valores falsamente elevados ou baixos com kits de ensaio empregando anticorpos monoclonais de rato. No entanto, nenhuma interferência óbvia de HAMA foi observada neste ensaio.

Características de desempenho

Sensibilidade analítica/Limite de detecção

O kit reagente de AFP (CLIA) tem uma sensibilidade analítica de $\leq 0,5$ ng/mL. A sensibilidade analítica é definida como a menor concentração de analito que pode ser diferenciado de uma amostra que não contém nenhum analito. É definida como a concentração de AFP em dois desvios padrões acima da média de 20 medições de RLU de uma amostra isenta de analito.

Intervalo para relatório

O intervalo para relatório é definido pela sensibilidade analítica e o limite superior da curva de calibração principal. O intervalo para relatório do kit reagente de AFP (CLIA) é 0,5-1210 ng/mL (ou se o limite superior estiver acima de 48400 ng/mL para amostras diluídas 40 vezes).

Especificidade

Hemoglobina até 500 mg/dL, bilirrubina até 20 mg/dL, triglicérides até 520 mg/dL e proteína total até 10,0 g/dL não vão interferir no ensaio de AFP da série CL. Estas substâncias mostraram menos de 10% de interferências na concentração indicada. Nenhuma interferência óbvia foi observada a partir de fator reumatóide até 1500 UI/mL ou anticorpo antinuclear até 4000 U/L.

Nenhuma reatividade cruzada significativa foi observada quando gonadotrofina coriônica humana (HCG), α -1-glicoproteína ácida, transferrina, α -1-antitripsina e prolactina (PRL) foram adicionados ao calibrador de AFP C0, em níveis específicos indicados na tabela abaixo. Os resultados mostraram não haver mais do que 2,0 ng/mL no ensaio de AFP da série CL nos níveis indicados abaixo.

Substratos	Concentração de reatividade cruzada
HCG	1000 mIU/mL
α -1 glicoproteína ácida	2 mg/mL
Transferrina	400 mg/dL
α -1 antitripsina	500 mg/dL

PRL	50,000 mIU/L
Testes de substância de interferência foram realizados em seis produtos farmacêuticos normalmente utilizados. Esses compostos apresentaram interferência inferior a 10% no ensaio de AFP da série CL, aos níveis a seguir indicados.	

Composto de teste	Substância de interferência Concentração
Acetaminofeno	200 µg/mL
Ácido acetilsalicílico	0,50 mg/mL
Cisplatina	100 µg/mL
Cisplatina	1000 µg/mL
Ciclofosfamida	25 mg/dL
Vincristina	70 mg/dL

O Calibrador de AFP Mindray C0 foi suplementado com outros marcadores tumorais, como o antígeno específico da próstata (PSA), antígeno de câncer 125 (CA125), antígeno de câncer 15-3 (CA15-3), antígeno de carboidrato 19-9 (CA19-9), antígeno carcinoembrionário (CEA) e ferritina (FERR) em níveis específicos indicados na tabela abaixo. Nenhuma reatividade cruzada óbvia foi observada visto que todos os resultados foram $\leq 5,0$ ng/mL. Os resultados encontram-se na tabela abaixo.

Tumor Marcador	Reagentes cruzados Concentração	AFP relatado (ng/mL)	Aceitação Critério
PSA	100 ng/mL	0,00	AFP relatado $\leq 5,0$ ng/mL
CA125	1000 U/mL	0,01	
CA15-3	100 U/mL	0,01	
CA19-9	1000 U/mL	0,00	
CEA	1000 ng/mL	0,00	
FERR	1000 ng/mL	4,61	

Gancho de alta dosagem

Para o ensaio de AFP da série CL, nenhum efeito de gancho da dose alta foi observado quando as amostras que contêm até cerca de 120.000 ng/mL de AFP foram testadas.

Exatidão

Uma amostra de Alfafetoproteína de Padrão Internacional da OMS (código NIBSC: AFP) com valor rastreável e definido foi utilizado para verificar a precisão deste ensaio. Os resultados mostraram que o desvio relativo foi inferior a $\pm 10\%$. Os resultados são mostrados na tabela abaixo

Amostra	AFP medido Valor (ng/mL)	AFP definido Valor (ng/mL)	Relativo Desvio
AFP OMS	112,64	116,83	-3,59%

Precisão

O ensaio de AFP da série CL é projetado para ter uma precisão de $\leq 10\%$ (CV no dispositivo). A precisão foi determinada de acordo com o Protocolo EP5-A2⁹ do Comitê Nacional para Padrões de Laboratório Clínico (NCCLS). Dois níveis de controles de qualidade foram testados em duplicado em duas experiências separadas por dia, por um total de 20 dias, utilizando-se um único lote de reagentes e uma única curva de calibração. Os dados de linearidade estão resumidos na tabela abaixo.

Amostra	AFP médio	No CV em	Entre-C V em	No CV no
---------	-----------	----------	--------------	----------

	(ng/mL)	execuções	execuções	dispositivo
1	10,40	4,05 %	5,14 %	9,07 %
2	102,27	3,56 %	4,44 %	8,86 %

Linearidade

Uma alta concentração de amostra de AFP (aproximadamente 400 ng/mL) foi misturada com uma amostra de concentração baixa ($< 1,0$ ng/mL) em diferentes proporções, gerando uma série de diluições. A AFP de cada diluição foi determinada usando o ensaio de AFP da série CL da Mindray. A linearidade foi demonstrada na gama de 1,0 ng/mL a 400 ng/mL, o coeficiente de correlação $r \geq 0,9900$. A linearidade dos dados estão resumidos na tabela abaixo.

Concentração (ng/mL)	1	2	3	4	5	6
AFP esperado	0,14	104,75	209,35	313,96	418,56	523,16
AFP medido	0,14	103,14	208,47	313,14	415,70	523,16

Comparação de métodos

O ensaio de AFP da série CL da Mindray foi comparado com um kit de diagnóstico disponível no mercado em um estudo de correlação com cerca de 1287 espécimes. Os dados estatísticos obtidos pelo modo de computação de Deming são mostrados na tabela abaixo.

Intervalo de concentração (ng/mL)	Queda	Intercepto	Correlação Coeficiente
0,13-1476,15	0,949	0,115	0,996

Avisos e precauções

- Apenas para diagnóstico in vitro.
- Siga todas as regras de manipulação de reagentes laboratoriais e tome as precauções de segurança necessárias.
- Devido às diferenças na metodologia e especificidade do anticorpo, os resultados do teste de uma mesma amostra podem ser diferentes ao usar kits de reagentes a partir de diferentes fabricantes, no sistema Mindray, ou usando kits de reagentes Mindray em outros sistemas.
- Não utilize kits de reagentes vencidos.
- Não utilize reagentes misturados de diferentes lotes
- Sempre mantenha a embalagem do reagente na posição vertical, para garantir que não haja micropartícula perdida antes da utilização.
- Pacote de reagente aberto por mais de 56 dias não é recomendado para uso.
- A confiabilidade dos resultados do ensaio não pode ser garantida se as instruções deste folheto não forem seguidas.
- Todos os resíduos de amostras e de reação deverão ser considerados potencialmente de risco biológico. A manipulação das amostras e resíduos de reação deve estar de acordo com os regulamentos e orientações locais.
- A Folha de Dados de Segurança de Material (MSDS) está disponível mediante solicitação.

Símbolos gráficos

Referências

- Ruoslahti E, Seppala M. Studies of carcino-fetal proteins: physical and chemical properties of

Todos os direitos reservados

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

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

E-mail: service@mindray.com

Website: www.mindray.com

Tel: +86-755-26582888

Fax: +86-755-26582680

Representantes da UE: Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europa)

Endereço: Eiffestraße 80, Hamburgo 20537, Alemanha

Tel: 0049-40-2513175

Fax: 0049-40-255726