

Português**Nota**

O valor da AFP medido na amostra de um paciente pode variar consoante o procedimento de teste utilizado. Por isso, o resultado laboratorial deve sempre incluir uma declaração sobre o método de doseamento de AFP utilizado. Os valores de AFP obtidos nas amostras de pacientes através de outros procedimentos não podem ser comparados directamente uns com os outros, pois podem originar interpretações médicas erróneas. Quando se muda de método de doseamento do AFP durante a monitorização da terapêutica, os valores de AFP obtidos com o novo método devem ser confirmados através de medições paralelas com os dois métodos.

Função

Imunoensaio para a determinação quantitativa in vitro da α₁-fetoproteína em soro e plasma humanos.

O teste Elecsys AFP destina-se a ser utilizado:

- como auxiliar no tratamento de pacientes com tumores das células germinais não-seminomatosos.
- em conjunto com outros parâmetros, para avaliar o risco de trissomia 21 (Síndrome de Down). É necessário realizar mais testes para fazer o diagnóstico de anomalias cromossómicas.

O imunoensaio de electroquimioluminescência (electrochemiluminescence immunoassay ou "ECLIA") foi concebido para ser utilizado nos analisadores de imunoensaios Elecsys 1010/2010 e MODULAR ANALYTICS E170 (Módulo Elecsys) da Roche.

Características

A α₁-fetoproteína, uma glicoproteína semelhante à albumina, com um peso molecular de 70.000 daltons, é sintetizada na vesícula blastodérmica, nas células hepáticas não-diferenciadas e no aparelho gastrointestinal fetal.^{1,2} 70%-95% dos pacientes com carcinoma hepatocelular primário apresentam valores de AFP elevados.³

Os valores de AFP vão aumentando à medida que vai avançando o tumor não-seminomatoso das células germinais. A gonadotrofina coriónica humana (hCG) e a AFP são parâmetros importantes para calcular a taxa de sobrevivência de doentes afectados por tumores não-seminomatosos das células germinais, em fase avançada.^{4,5,6}

Até agora, não se conseguiu ainda estabelecer qualquer correlação entre a concentração de AFP e o tamanho, a taxa de crescimento, o estágio e o grau de malignidade de um tumor. Normalmente, valores de AFP muito elevados indicam a presença de carcinoma primário das células hepáticas. Quando existem metástases hepáticas, os valores de AFP situam-se geralmente abaixo de 350-400 UI/ml.⁷ Como os valores de AFP aumentam durante a regeneração do fígado, observaram-se valores moderadamente elevados na cirrose hepática provocada pelo consumo de álcool e na hepatite viral aguda, bem como nos portadores de HBsAg.^{7,8} Contudo, não é aconselhável a determinação de AFP para a despistagem de tumores na população em geral.

Durante a gravidez, concentrações elevadas de AFP no soro materno ou no líquido amniótico podem ser indicadoras de spina bifida, anencefalia, atresia esofágica ou gravidez múltipla.^{9,10,11,12}

A determinação da AFP auxilia na avaliação do Síndrome de Down, em conjunto com um painel de testes (por exemplo hCG, estriol não conjugado - uE3), e com outros parâmetros, como a idade gestacional exacta e o peso da mãe. A concentração de hCG sérica materna é aproximadamente o dobro da mediana normal em caso de gravidez com síndrome de Down fetal,¹³ e as concentrações de AFP e uE3 encontram-se diminuídas. Durante o segundo trimestre, o risco de gravidez com síndrome de Down pode ser calculado utilizando o algoritmo descrito por Wald¹⁴ e os respectivos parâmetros específicos.^{13,14,15,16,17,18,19}

Princípio do teste

Técnica de sandwich. Duração total do ensaio: 18 minutos.

- 1ª incubação: 10 µl de amostra, um anticorpo monoclonal biotinilado específico anti-AFP e um anticorpo monoclonal específico anti-AFP marcado com complexo de ruténio^a reagem entre si e formam um complexo sandwich.

- 2ª incubação: Após a incorporação das micropartículas revestidas de estreptavidina, o complexo formado liga-se à fase sólida pela interacção da biotina e da estreptavidina.
- A mistura de reacção é aspirada para a célula de leitura, onde as micropartículas são fixadas magneticamente à superfície do eléctrodo. Os elementos não ligados são então removidos com ProCell. A aplicação de uma corrente eléctrica ao eléctrodo induz uma emissão quimioluminescente que é medida por um fotomultiplicador.
- Os resultados são determinados com base numa curva de calibração, que é gerada especificamente pelo analisador por uma calibração de 2 pontos, e uma curva principal incluída no código de barras do reagente.

a) Complexo Tris(2,2'-bipiridil)ruténio(II) (Ru(bpy)₃²⁺)

Reagentes - soluções de trabalho

Dispositivo de reagentes Elecsys AFP, Ref. 04481798 - 100 testes

- M Micropartículas revestidas de estreptavidina (tampa transparente), 1 frasco, 6,5 ml:
Micropartículas revestidas de estreptavidina, 0,72 mg/ml, capacidade de fixação: 470 ng biotina/mg micropartículas; conservante.
- R1 Anticorpo anti-AFP-biotina (tampa cinzenta), 1 frasco, 10 ml:
Anticorpo anti-AFP monoclonal biotinilado (ratinho) 4,5 mg/l;
tampão fosfato 100 mmol/l, pH 6,0; conservante.
- R2 Anticorpo anti-AFP~Ru(bpy)₃²⁺ (tampa preta), 1 frasco, 10 ml:
Anticorpo monoclonal anti-AFP (ratinho) marcado com complexo de ruténio 12,0 mg/l; tampão fosfato 100 mmol/l, pH 6,0; conservante.

Precauções e advertências

Para utilização em diagnóstico in vitro.

Respeite as precauções normais de manuseamento de reagentes laboratoriais.

Elimine todos os resíduos de acordo com os regulamentos locais.

Ficha de segurança fornecida a pedido, para uso profissional.

Evite a formação de espuma com todos os reagentes e com todo o tipo de amostras (amostras de pacientes, calibradores e controlos).

Preparação dos reagentes

Os reagentes do dispositivo foram incluídos numa unidade pronta a ser utilizada que não pode ser separada.

Toda a informação necessária ao correcto funcionamento é introduzida no analisador através dos respectivos códigos de barras do reagente.

Conservação e estabilidade

Conservar a 2-8°C.

Coloque o dispositivo de reagentes Elecsys AFP **na vertical** para assegurar a total disponibilidade das micropartículas durante a mistura automática, antes da utilização.

Estabilidade:

em frasco fechado a 2-8°C:	até ao fim do prazo de validade indicado
após abertura a 2-8°C:	12 semanas
no analisador	8 semanas
MODULAR ANALYTICS E170:	
no analisador Elecsys 2010:	8 semanas
no analisador Elecsys 1010:	4 semanas (guardado alternadamente no frigorífico e no analisador - temperatura ambiente 20-25°C; até 20 horas no total quando aberto)

Colheita e preparação das amostras

Apenas as amostras indicadas em seguida foram testadas e consideradas aceitáveis.

O soro é colhido em tubos de amostra padrão ou com gel separador.

Plasma tratado com heparina de sódio, EDTA-K₃ e citrato de sódio. Se for utilizado citrato de sódio, os resultados têm de ser corrigidos em + 10%.

Critério: Recuperação dentro de 90-110% do valor sérico ou declive

0,9-1,1 + intercepção dentro de < ± 2 x sensibilidade analítica + coeficiente de correlação > 0,95.

Estabilidade: 7 dias a 2-8°C, 3 meses a -20°C.²⁰

Não foi avaliado o uso de amostras de plasma na estimação do risco de trissomia 21.



Os diferentes tipos de amostras incluídos na lista foram testados com base numa selecção de tubos de colheita de amostras comercialmente disponíveis na altura em que o teste foi realizado, i.e. nem todos os tubos dos diferentes fabricantes disponíveis no mercado foram testados. Os sistemas de colheita de amostras de diferentes fabricantes podem, por sua vez, conter materiais diferentes que, em alguns casos, podem afectar os resultados dos testes. Se utilizar amostras em tubos primários (sistemas de colheita de amostras), consulte as instruções do fabricante dos tubos.

As amostras que contêm precipitado têm de ser centrifugadas antes da realização do ensaio. Não utilize amostras inactivadas por calor. Não utilize amostras e controlos estabilizados com azida.

Antes da determinação, certifique-se de que as amostras dos pacientes, os calibradores e os controlos estão à temperatura ambiente (20-25°C). Devido a possíveis efeitos de evaporação, as amostras, os calibradores e os controlos colocados no analisador deverão ser analisados no prazo de duas horas.

Materiais fornecidos

Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho".

Materiais necessários (mas não fornecidos)

- Ref. 04487761, Elecsys AFP CalSet II, para 4 x 1 ml
- Ref. 11776452, Elecsys PreciControl Tumor Marker, para 2 x 3 ml cada de PreciControl Tumor Marker 1 e 2 ou Ref. 11731416, Elecsys PreciControl Universal, para 2 x 3 ml cada de PreciControl Universal 1 e 2
- Ref. 11732277, Elecsys Diluent Universal, 2 x 18 ml de diluente de amostras ou Ref. 03183971, Elecsys Diluent Universal, 2 x 40 ml de diluente de amostras
- Equipamento normal de laboratório
- Analisadores Elecsys 1010/2010 ou MODULAR ANALYTICS E170

Acessórios para os analisadores Elecsys 1010 e 2010:

- Ref. 11662988, Elecsys ProCell, 6 x 380 ml de tampão do sistema
- Ref. 11662970, Elecsys CleanCell, 6 x 380 ml de solução de limpeza para a célula de leitura
- Ref. 11930346, Elecsys SysWash, 1 x 500 ml de aditivo para água de lavagem
- Ref. 11933159, Adaptador para SysClean
- Ref. 11706829, Elecsys 1010 AssayCup, 12 x 32 cuvetes de reacção ou Ref. 11706802, Elecsys 2010 AssayCup, 60 x 60 de cuvetes de reacção
- Ref. 11706799, Elecsys 2010 AssayTip, 30 x 120 pontas de pipeta

Acessórios para o analisador MODULAR ANALYTICS E170:

- Ref. 12135019, ProCell M, 1 x 2 l de tampão do sistema
- Ref. 12135027, CleanCell M, 1 x 2 l de solução de limpeza para a célula de leitura
- Ref. 03023141, PC/CC-Cups, 50 cuvetes para pré-aquecimento do ProCell M e do CleanCell M antes de usar
- Ref. 03005712, ProbeWash M, 12 x 70 ml de solução de limpeza para finalização da análise e lavagem durante a mudança de reagentes
- Ref. 12102137, AssayTip/AssayCup Combimagazine M, 48 tabuleiros x 84 cuvetes de reacção ou pontas de pipeta, sacos para lixo
- Ref. 03023150, Wasteliner, sacos para lixo
- Ref. 03027651, SysClean Adapter M

Acessórios para todos os analisadores:

- Ref. 11298500, Elecsys SysClean, 5 x 100 ml de solução de limpeza do sistema

Realização do ensaio

Para assegurar a correcta execução do ensaio, é importante cumprir as instruções fornecidas neste documento para o analisador utilizado. Consulte o manual do operador apropriado para obter informações mais específicas sobre o ensaio feito no analisador.

A ressuspensão das micropartículas é efectuada automaticamente antes de usar. Introduza os parâmetros específicos do teste através dos códigos de barras dos reagentes. Se, em algum caso excepcional, não for possível ler o código de barras, o código numérico de 15 dígitos deverá ser introduzido manualmente.

Analisadores MODULAR ANALYTICS E170 e Elecsys 2010: Eleve a temperatura dos reagentes refrigerados até aprox. 20°C e coloque-os no disco dos reagentes (20°C) do analisador. Evite a formação de espuma. O sistema regula **automaticamente** a temperatura dos reagentes e a abertura/fecho dos frascos.

Analisador Elecsys 1010: Eleve a temperatura dos reagentes refrigerados até aprox. 20-25°C e coloque-os no disco dos reagentes/amostras do analisador (temperatura ambiente a 20-25°C). Evite a formação de espuma. **Abra** as tampas dos frascos **manualmente** antes de usar e **feche manualmente** depois de usar. Conserve a 2-8°C depois de usar.

Calibração

Rastreabilidade: Este método foi padronizado contra o "1st IRP Reference Standard 72/225" da OMS.

Cada dispositivo de Elecsys AFP contém um código de barras com informações específicas para a calibração do lote de reagentes em questão. A curva principal previamente definida é adaptada ao analisador através do Elecsys AFP CalSet II.

Frequência das calibrações: Uma calibração por lote de reagentes utilizando reagente recém-colocado (i.e., dentro de um máximo de 24 horas após ter sido registado no analisador). Devem ser feitas as seguintes recalibrações:

Analisadores MODULAR ANALYTICS E170 e Elecsys 2010:

- passado 1 mês (28 dias) quando se utiliza o mesmo lote de reagentes
- passados 7 dias (quando se utiliza o mesmo dispositivo de reagentes no analisador)

Analisador Elecsys 1010:

- com cada dispositivo de reagentes
- passados 7 dias (temperatura ambiente de 20-25°C)
- passados 3 dias (temperatura ambiente de 25-32°C)

Para todos os analisadores:

- conforme necessário: p. ex., em resultados de ensaios de controlo de qualidade fora dos limites especificados.

Controlo de qualidade

Para o controlo de qualidade, utilize Elecsys PreciControl Tumor Marker 1 e 2 ou Elecsys PreciControl Universal 1 e 2.

Adicionalmente pode ser utilizado outro material de controlo adequado.

Efectue os controlos dos diversos intervalos de concentração como determinações simples, pelo menos uma vez em cada 24 horas, quando o teste estiver a ser utilizado, uma vez por dispositivo de reagentes e a seguir a cada calibração. Os intervalos e limites de controlo devem ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos limites definidos.

Cada laboratório deve estabelecer as medidas correctivas a tomar no caso de os valores se situarem fora dos limites.

Cálculo

O analisador calcula automaticamente a concentração de analito de cada amostra (em UI/ml, ng/ml, KU/1 ou adicionalmente em UI/1 no analisador MODULAR ANALYTICS E170).

Factores de conversão: UI/ml x 1,21 = ng/ml
ng/ml x 0,83 = UI/ml

Limitações – interferências

O ensaio não é afectado pela icterícia (bilirrubina < 1112 µmol/l ou < 65 mg/dl), hemólise (Hb < 1,4 mmol/l ou < 2,2 g/dl), lipemia (Intralipid < 1500 mg/dl) e biotina < 246 nmol/l ou < 60 ng/ml.

Critério: recuperação dentro de ± 10% do valor inicial.

Nos doentes em tratamento com doses elevadas de biotina (i.e. > 5 mg/dia), as amostras só deverão ser colhidas no mínimo 8 horas após a última administração de biotina.

Não foi observada interferência do factor reumatóide até uma concentração de 1.500 UI/ml.

Não foi observado qualquer efeito "high-dose hook" em concentrações de AFP até 1 milhão de UI/ml (1,21 milhões de ng/ml).

Foram efectuados testes in vitro com 26 fármacos frequentemente utilizados. Não se encontrou qualquer interferência com o ensaio.

Tal como acontece com todos os testes que contêm anticorpos monoclonais de rato, este teste pode produzir resultados errados em



AFP

α_1 -fetoproteína - AFP

cobas

9. Brewer JA, Tank ES. Yolk sac tumors and alpha-fetoprotein in first year of life. *Urology* 1993;42:1:79-80.
10. Wald NJ, et al. Antenatal maternal serum screening for Down's syndrome: results of a demonstration project. *BMJ* 1992;305:391-394.
11. Canick JA, Saller DN Jr. Maternal serum screening for aneuploidy and open fetal defects. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1993;20,3:443-454.
12. Bendon RW. The anatomic basis of maternal serum screening. *Ann Clin Lab Sci* 1991;(21)1:36-39.
13. Schlebusch H. Prenatal screening for Down's syndrome. In: Thomas L (ed.). *Clinical Laboratory Diagnosis*, TH-Books, Frankfurt, 1st English edition 1998:1124-1125, deutsche Auflage 1998:1149-1150.
14. Cuckle HS, Wald NJ, Thompson SG. Estimating a woman's risk of having a pregnancy associated with Down's syndrome using her age and serum alpha-fetoprotein level. *Br J Obstet Gynaecol* 1987;94:387-402.
15. Reynolds TM, Penney MD. The mathematical basis of multivariate risk screening: with special reference to screening for Down's syndrome associated pregnancy. *Ann Clin Biochem* 1989;26:452-458.
16. Cuckle HS, Wald NJ, Nanchahal K, Densem J. Repeat maternal serum alpha-fetoprotein testing in antenatal screening programmes for Down's syndrome. *Br J Obstet Gynaecol* 1989;96:52-60.
17. Dunstan FDJ, Gray JC, Nix ABJ, Reynolds T. Detection rates and false positive rates for Down's Syndrome screening: How precisely can they be estimated and what factors influence their value? *Statistics Medicine* 1997;16:1481-1495.
18. Lamson SH, Hook B. Comparison of Mathematical Models for the Maternal Age Dependence of Down's Syndrome Rates. *Hum Genet Vol* 1981;59:232-234.
19. Cuckle HS. Improved parameters for risk estimation in Down's syndrome screening. *Prenat Diagn* 1995;15:1057-1065.
20. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes; Preanalytical Variables. Brochure in: *Samples: From the Patient to the Laboratory*. GIT-Verlag, Darmstadt 1996:10. ISBN 3-928865-22-6.
21. Bablok W, et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988;26:783-790.

NOTA PARA O COMPRADOR: LIMITED LICENSE

A aquisição deste produto permite que o comprador o utilize exclusivamente para diagnóstico in vitro humano pela tecnologia ECL. Nenhuma patente geral ou outra licença de qualquer tipo, à exceção deste direito específico de uso de compra, é concedida por este meio. Este produto não pode ser usado pelo comprador na pesquisa/desenvolvimento em ciências da vida, em testes de auto-diagnóstico, na identificação/desenvolvimento de drogas ou em qualquer utilização ou teste veterinário, alimentar, de água ou ambiental.

Para mais informações, consulte o manual do operador adequado ao analisador, as folhas de aplicação respectivas, a informação do produto e os folhetos informativos de todos os componentes necessários.

As alterações ou os acréscimos significativos estão assinalados por uma barra de alteração na margem. As alterações dos parâmetros de teste do código de barras do reagente que já foram introduzidas devem ser editadas manualmente.
©2005 Roche Diagnostics

CE 0123

Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

