

**Português****Nota**

O valor do CEA 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 CEA utilizado. Os valores de CEA 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 CEA durante a monitorização da terapêutica, os valores de CEA obtidos com o novo método devem ser confirmados através de medições paralelas com os dois métodos. **Para os EUA:** Atenção: Segundo a lei federal norte-americana, a venda e distribuição deste dispositivo é restrita a laboratórios de análises clínicas ou a pedido de um médico; a sua utilização é restrita a médicos ou por prescrição destes.

**Função**

Imunoensaio para a determinação quantitativa *in vitro* do antigénio carcinoembrionário em soro e plasma humanos. O ensaio Elecsys CEA aplica-se ainda em medições em série de CEA que contribuem para o tratamento de doentes com cancro.

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**

O CEA é uma glicoproteína monomérica (peso mol. aprox. 180.000 daltons), com cerca de 45-60% de um componente de hidrato de carbono.<sup>1</sup>

Tal como a AFP, o CEA pertence ao grupo dos antigénios carcinofetais que são produzidos durante o período embrionário e fetal. A família de genes do CEA é constituída por cerca de 17 genes activos, divididos por 2 subgrupos.<sup>2</sup> O 1º grupo contém CEA e os antigénios NCA ("Non-specific Cross-reacting Antigens"). O 2º grupo contém as glicoproteínas PSG ("Pregnancy-Specific Glycoproteins").

O CEA encontra-se sobretudo no tracto gastrointestinal e no soro do feto. Ocorre também em pequenas quantidades no tecido intestinal, pancreático e hepático de adultos saudáveis. A formação de CEA é reprimida após o nascimento e, por esta razão, só muito dificilmente é que os valores de CEA sérico são mensuráveis em adultos saudáveis.

Observam-se frequentemente concentrações elevadas de CEA nos casos de adenocarcinoma colorectal.<sup>6,8</sup> Verificam-se aumentos ligeiros a moderados do CEA (raramente acima de 10 ng/ml) em 20-50% das doenças benignas dos intestinos, do pâncreas, do fígado e dos pulmões (p. ex., cirrose hepática, hepatite crónica, pancreatite, colite ulcerosa, doença de Crohn, enfisema).<sup>6,7</sup> Os fumadores também apresentam valores elevados de CEA.

A principal indicação para as determinações do CEA é o seguimento e a monitorização da terapêutica em doentes com carcinoma colorectal.

Não é aconselhável determinar o CEA para despiste do cancro na população em geral. As concentrações de CEA que se situam dentro do intervalo normal não excluem a presença possível de doença maligna.

Os anticorpos reagem com o CEA e (tal como sucede com a maior parte dos métodos para CEA) com o antigénio mecónio (NCA2).<sup>5</sup> A reacção cruzada com o NCA1 é de 0,7%.

Os epítomos reagentes do CEA foram identificados, tendo os anticorpos monoclonais disponíveis sido divididos em 6 grupos de epítomos.<sup>3,4</sup> Os anticorpos utilizados no teste Elecsys reagem com os epítomos 2 e 5.

**Princípio do teste**

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

- 1ª incubação: 10 µl de amostra, um anticorpo monoclonal biotinilado específico anti-CEA e um anticorpo monoclonal específico anti-CEA marcado com complexo de ruténio<sup>a</sup> 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)<sub>3</sub><sup>2+</sup>)

**Reagentes - soluções de trabalho**

Dispositivo de reagentes Elecsys CEA, Ref. 11731629 - 100 testes

- M Micropartículas revestidas de estreptavidina (tampa transparente), 1 frasco, 8 ml:  
Micropartículas revestidas de estreptavidina, 0,72 mg/ml; capacidade de ligação: 470 ng biotina/mg micropartículas; conservante.
- R1 Anticorpo anti-CEA-biotina (tampa cinzenta), 1 frasco, 10 ml:  
Anticorpo monoclonal biotinilado anti-CEA (ratinho/humano) 3,0 mg/l; tampão fosfato 100 mmol/l, pH 6,0; conservante.
- R2 Anticorpo anti-CEA-Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> (tampa preta), 1 frasco, 8 ml:  
Anticorpo monoclonal anti-CEA (ratinho) marcado com complexo de ruténio 4,0 mg/l; tampão fosfato 100 mmol/l, pH 6,5; 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 CEA **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	6 semanas
MODULAR ANALYTICS E170:	
no analisador Elecsys 2010:	6 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-Na, EDTA-K<sub>3</sub> e citrato de sódio. Se utilizar heparina de sódio e citrato de sódio, os resultados têm de ser corrigidos a +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, 6 meses a -20°C.<sup>9</sup>

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. Ao 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. 11731645, Elecsys CEA CalSet, 4 x 1 ml
- Ref. 11776452, Elecsys PreciControl Tumor Marker, para 2 x 3 ml cada de PreciControl Tumor Marker 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

Apenas disponível nos EUA:

- Ref. 11776754 Elecsys CEA CalCheck, 3 intervalos de concentração

#### 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 73/601 da OMS.

Cada dispositivo de reagentes do teste Elecsys CEA 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 CEA CalSet.

**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 o Elecsys PreciControl Tumor Marker 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 do analito de cada amostra (em ng/ml ou µg/l).

1 ng/ml de CEA corresponde a 16,9 mU/ml.

#### Limitações – interferências

O ensaio não é afectado pela icterícia (bilirrubina < 1.129 µmol/l ou < 66 mg/dl), hemólise (Hb < 1,4 mmol/l ou < 2,2 g/dl), lipemia (Intralipid < 1.500 mg/dl) e biotina < 491 nmol/l ou < 120 ng/ml.

Crítério: 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 CEA até 200.000 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 amostras colhidas em pacientes tratados com este tipo de anticorpos ou que os receberam para fins de diagnóstico.

Em casos isolados, podem ocorrer interferências devido a títulos extremamente elevados de anticorpos para a estreptavidina e para o ruténio.

O teste contém aditivos que minimizam estes efeitos.

Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados devem ser sempre interpretados em conjunto com a anamnese do paciente, o exame clínico e outros resultados.



**Intervalo de medição**

0,200-1.000 ng/ml (definido pelo limite de detecção inferior e pelo máximo da curva principal). Os valores inferiores ao limite de detecção são indicados como < 0,200 ng/ml. Os valores acima do intervalo de medição são indicados como > 1.000 ng/ml (ou até 50.000 ng/ml no caso das amostras diluídas 50 vezes).

**Diluição**

As amostras com concentrações de CEA acima do intervalo de medição podem ser diluídas com o Elecsys Diluent Universal. A diluição recomendada é de 1:50 (feita automaticamente pelos analisadores MODULAR ANALYTICS E170 e Elecsys 1010/2010 ou manualmente). A concentração da amostra diluída tem de ser > 20 ng/ml. Após a diluição manual, multiplique o resultado pelo factor de diluição. Após a diluição pelos analisadores, o software do analisador MODULAR ANALYTICS E170 e dos analisadores Elecsys 1010/2010 toma automaticamente em consideração a diluição ao calcular a concentração da amostra.

**Valores teóricos**

Resultados dos estudos utilizando o teste Elecsys CEA:

≤ 3,4 ng/ml de CEA para 95% dos valores de um grupo de 314 indivíduos saudáveis.

Em 132 fumadores do grupo anterior, analisados em separado, obteve-se um valor correspondente de 4,3 ng/ml.

Cada laboratório deve verificar a transferibilidade dos valores teóricos para a sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar os seus próprios intervalos de referência.

**Dados específicos sobre o desempenho**

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho nos analisadores. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

**Precisão**

A reprodutibilidade foi determinada com reagentes Elecsys, uma pool de soros humanos e controlos de acordo com um protocolo modificado (EP5-A) do NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards): 6 vezes por dia durante 10 dias (n = 60), precisão intra-ensaio no analisador MODULAR ANALYTICS E170, n = 21. Obtiveram-se os seguintes resultados:

Elecsys 1010/2010		Precisão intra-ensaio		Precisão total	
Amostra	Média ng/ml	DP ng/ml	CV %	DP ng/ml	CV %
Soro humano 1	2,2	0,11	5,0	0,12	5,4
Soro humano 2	19,6	0,32	1,6	0,44	2,3
Soro humano 3	528	6,82	1,3	10,6	2,0
PreciControl TM <sup>b</sup> 1	4,9	0,12	2,5	0,18	3,6
PreciControl TM2	34,1	0,58	1,7	1,02	3,0

b) TM = Tumor Marker

MODULAR ANALYTICS E170		Precisão intra-ensaio			Precisão total		
Amostra	Média ng/ml	DP ng/ml	CV %	Média ng/ml	DP ng/ml	CV %	
Soro humano 1	3,32	0,05	1,3	3,90	0,18	4,7	
Soro humano 2	225	2,53	1,0	252	11,6	4,6	
Soro humano 3	626	11,8	1,9	699	34,8	5,0	
PreciControl TM1	4,38	0,10	2,5	4,74	0,24	5,1	
PreciControl TM2	33,8	0,73	2,0	34,9	1,71	4,9	

**Sensibilidade analítica (limite de detecção inferior)**

0,20 ng/ml

O limite de detecção representa o nível de analito mais baixo mensurável passível de ser distinguido de zero. É calculado como o valor situado dois desvios padrão (DP) acima do padrão mais baixo (calibrador principal, padrão 1 + 2 DP, precisão intra-ensaio, n = 21).

**Comparação dos métodos**

Uma comparação do método Elecsys CEA (y) com o teste Enzymun-Test CEA (x), utilizando amostras clínicas, teve como resultado as seguintes correlações: Número de amostras medidas: 108

Passing/Bablok <sup>10</sup>	Regressão linear
y = 0,91x + 0,06	y = 0,90x + 0,04
τ = 0,913	r = 0,992
DP (md68) = 0,556	Sy.x = 1,236

As concentrações das amostras variaram entre aprox. 0,7 e 52 ng/ml.

**Especificidade analítica**

No caso dos anticorpos monoclonais utilizados, observaram-se as seguintes reacções cruzadas:

NCA1 < 0,7%, NCA2 72%.

Nenhuma reacção cruzada com a AFP e a α<sub>1</sub>-glicoproteína ácida.

Não foram realizadas investigações sobre reacções cruzadas possíveis com as glicoproteínas dos pulmões e do fígado.

**Bibliografia**

- Gold P, Freedman SO. Demonstration of tumor-specific antigen in human colonic carcinomata. J Exp Med 1965;121:(3)439.
- Thompson JA. Molecular cloning and expression of carcinoembryonic antigen gene family members. Tumor Biol 1995;16:10-16.
- Hammarström S, et al. Antigenic sites in carcinoembryonic antigen. Cancer Research 1989;49:4852-4858.
- Bormer OP, Thrane-Steen K. Epitope group specificity of six immunoassays for carcino-embryonic antigen. Tumor Biol 1991;12:9-15.
- Kuroki M, et al. Reaction profiles of seven enzyme immunoassay kits for carcinoembryonic antigen (CEA) analyzed with purified preparations of CEA and related normal antigens. Clin Biochem 1992;25:29-35.
- Stieber P, Fateh-Moghadam A. Sensible use of tumor markers. Boehringer Mannheim, Cat. No. 1536869 (Engl.), 1320947 (German). ISBN 3-926725-07-9 German/English. Juergen Hartmann Verlag Marloffstein-Rathsberg (1993).
- Sell SS. Serological Cancer Markers. Humana Press 1992; ISBN 0-89603-209-4.
- Ballesta AM, Molina R, Filella X, Jo J, Gimenez N. Carcinoembryonic Antigen in Staging and Follow-up of Patients with Solid Tumors. Tumor Biol 1995;16:32-41.
- Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes; Pre-analytical Variables. Brochure in: Samples: From the Patient to the Laboratory. GIT-Verlag, Darmstadt 1996:10. ISBN 3-928865-22-6.
- 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 excepção 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



Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

