

Cyfra 21-1 Reagent kit

Instruções de Uso

Ref.: 4030

ANVISA 1000910477

REF 4030-50, 50 testes/kit

REF 4030-100, 100 testes/kit

Uso pretendido . Detecção quantitativa automática de fragmentos de citoqueratina 19 (Cyfra 21-1) em soro humano, usado para auxílio no diagnóstico, monitoramento e prognóstico de câncer de pulmão de células não pequenas (CPNPC).

Uso profissional.

[Somente para uso diagnóstico in vitro]

Analísador . Equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Resumo . A citoqueratina-19 (CK-19), também conhecida como Cyfra 21-1, é uma proteína estrutural que forma as subunidades dos filamentos intermediários epiteliais. Embora polipeptídeos de citoqueratina intactos são pouco solúveis, fragmentos solúveis como Cyfra 21-1 são frequentemente liberados na corrente sanguínea de pacientes com câncer e podem ser detectados no soro¹.

Cyfra 21-1 foi sugerido como um biomarcador para câncer de pulmão de células não pequenas (CPNPC)². No entanto, pode ser detectado não apenas em câncer de pulmão, mas também em outros tipos de câncer, como câncer de bexiga³, câncer de cabeça e pescoço⁴, além de câncer cervical⁵. Portanto, Cyfra 21-1 atua como um fator auxiliar no diagnóstico para câncer de pulmão.

Uma outra importante aplicação do Cyfra 21-1, é no monitoramento do tratamento e prognóstico para CPNPC. A terapia bem-sucedida é acompanhada por uma rápida diminuição do seu nível sérico para a faixa normal⁶. Portanto, monitorar o nível sérico de Cyfra 21-1 pode ser útil no fornecimento de informações detalhadas a pacientes e profissionais de saúde. Cyfra 21-1 também pode atuar como fator prognóstico para intervenção cirúrgica e/ou alteração no tratamento, uma vez que, a elevação do valor de Cyfra 21-1 após cirurgia pode indicar a recorrência da doença.²

Princípio do teste . O ensaio Cyfra 21-1, é um imunoensaio tipo sanduíche para determinar a presença de Cyfra 21-1 no soro humano, utilizando a técnica de análise por quimioluminescência (CLIA).

Primeiramente, a amostra e as micropartículas paramagnéticas revestidas com anti-Cyfra 21-1 e o conjugado anti-Cyfra marcado com acridina são combinados e incubados.

Finalmente, as soluções Pre-Trigger e Trigger são então adicionadas à mistura e a reação quimioluminescente resultante é medida como Unidades Relativas de Luz (RLUs). Existe uma relação direta entre a quantidade de Cyfra 21-1 presente na amostra e as RLUs detectadas pelo equipamento automático dedicado aos reagentes de

quimioluminescência da marca Labtest.

Reagentes

Reagentes - soluções de trabalho

REF	4030-50	4030-100
Testes por kit	50	100
R1	3,5 mL	6,0 mL
M	3,5 mL	6,0 mL
CAL 1	1,0 mL	1,0 mL
CAL 2	1,0 mL	1,0 mL
CONTROL 1	1,0 mL	1,0 mL
CONTROL 2	1,0 mL	1,0 mL
Tampas de silicone	2	2

R1 - Conjugado anti-Cyfra 21-1 $\leq 0,60 \mu\text{g/mL}$ marcado com acridina $\leq 4,20 \mu\text{g/mL}$ em tampão $\leq 7,27 \text{ mg/mL}$, surfactante, estabilizadores de proteína, bloqueador e azida sódica $\leq 0,1\%$.

M - Micropartículas revestidas $\leq 0,65 \text{ mg/mL}$ com anti-Cyfra 21-1 $\leq 1,20 \mu\text{g/mL}$ em tampão $\leq 7,27 \text{ mg/mL}$, surfactante, estabilizadores de proteína e azida sódica $\leq 0,1\%$.

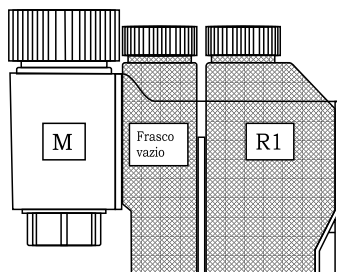
CAL 1 - Preparação liofilizada. Antígeno Cyfra 21-1 em tampão $\leq 19,3 \text{ mg/mL}$, estabilizadores de proteína, surfactante e conservante.

CAL 2 - Preparação liofilizada. Antígeno Cyfra 21-1 em tampão $\leq 19,3 \text{ mg/mL}$, estabilizadores de proteína, surfactante e conservante.

CONTROL 1 - Controle Positivo 1 (nível baixo): preparação liofilizada, antígeno Cyfra 21-1 em tampão $\leq 19,3 \text{ mg/mL}$, estabilizadores de proteína, surfactante e conservante*.

CONTROL 2 - Controle Positivo 2 (nível alto): preparação liofilizada, antígeno Cyfra 21-1 em tampão $\leq 19,3 \text{ mg/mL}$, estabilizadores de proteína, surfactante e conservante*

* Para média e intervalo, ver item Valores especificados para os controles.



Advertências e precauções

- Apenas para uso de diagnóstico in vitro.
- Tome os cuidados habituais de segurança necessários para manipular todos os reagentes de laboratório.
- O descarte de todo o material residual deve ser feito de acordo com as diretrizes locais.
- Ficha de segurança disponível no site www.labtest.com.br.
- Evite formação de espuma em todos os reagentes e tipos de amostras (amostra, calibradores e controles).
- Não use após a data de validade.
- Siga as recomendações de modo exato para resultados corretos.
- Não misture lotes de reagentes.
- Realizar a calibração do produto conforme o tópico "Calibração".
- Não utilizar o produto caso sejam observados sinais de contaminação.
- As cubetas são descartáveis e não devem ser reutilizadas.
- Não manusear o Reagent M próximo a campos eletromagnéticos intensos.
- Não separar o volume dos componentes R1 e M do kit em alíquotas.

Precauções de segurança

Cuidado . Como nenhum teste conhecido pode assegurar que amostras de sangue não transmitem infecções, todas elas devem ser consideradas como potencialmente infectantes. Portanto, ao manuseá-las deve-se seguir as normas estabelecidas para biossegurança.

Manuseio dos reagentes

1. Não retirar os frascos dos reagentes da rack.
2. Antes de carregar os reagentes no equipamento, homogeneizar suavemente por inversão e inspecionar visualmente o fundo do Reagent M para garantir que todas as partículas foram ressuspendidas. Após a mistura, coloque o reagente na posição vertical por 1 hora antes de usar, para garantir que as bolhas que possam ter se formado se dissipem. As bolhas podem interferir na detecção do nível de reagente no frasco e causar aspiração insuficiente, afetando negativamente os resultados.
3. Retire a tampa do R2 (frasco vazio) e substitua a tampa original dos reagentes R1 e M pelas tampas de silicone quando o reagente for carregado no equipamento automático.
4. A rack deve ser mantida na posição vertical, durante a utilização e armazenamento do kit.
5. Homogeneizar suavemente os calibradores e controles antes do uso.
6. Amostras, calibradores e controles não devem exceder o tempo total de 2 horas destampados e fora de refrigeração, devido a possíveis efeitos de evaporação. Recomenda-se que logo após a pipetagem os mesmos sejam retirados do equipamento e retornados a sua condição de armazenamento padrão.

Preparação dos calibradores e controles . Dissolver cuidadosamente o conteúdo de cada frasco de calibrador e controle adicionando exatamente 1,0 mL de água destilada ou deionizada e manter em repouso, fechado por 15 minutos para sua reconstituição. Misturar cuidadosamente, evitando a formação de espuma. Adicionar

os calibradores e controles na rack verde, dedicada para frascos liofilizados, e testar no equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência da marca Labtest.

Atenção: Nos casos em que sejam feitas alíquotas dos calibradores e controles reconstituídos, deve-se manter a embalagem original para a leitura do código de barras pelo equipamento. O volume da alíquota deve considerar o volume necessário por teste e o volume morto e/ou adicional descritos no manual do equipamento.

Armazenamento e estabilidade . Não congele. Armazene o Cyfra 21-1 Reagent Kit Ref. 4030 **na posição vertical** para garantir a total disponibilidade das micropartículas durante a mistura automática antes do uso. Em caso de tombamento da rack de reagentes, realizar nova calibração e conferir a recuperação dos valores dos controles para garantir que o desempenho do produto não tenha sofrido alteração.

Estabilidade:

Fechado a 2-8 °C	até a data de validade
Aberto a 2-8 °C	45 dias
On board	28 dias

Os calibradores e controles liofilizados são estáveis até a data de validade declarada.

Estabilidade dos calibradores e controles reconstituídos:

Armazenado 20-25 °C	6 horas
Armazenado 2-8 °C	46 dias
Armazenado -15 °C	46 dias

Indicações de deterioração dos reagentes . A deterioração dos reagentes pode ser indicada quando ocorre um erro de calibração ou um valor de controle está fora da faixa especificada. Os resultados dos testes associados são inválidos e as amostras devem ser testadas novamente após uma nova calibração.

Coleta e preparação de amostras . Utilizar soro, coletado em tubos com e sem gel separador. A amostra é estável por 7 dias a 20 - 25 °C, 30 dias a 2 - 8 °C, 6 meses a -20 °C ($\pm 5^\circ\text{C}$)^{7,13}.

Centrifugue as amostras contendo precipitados antes de realizar o ensaio. Para obter resultados precisos, as amostras de soro devem estar livres de fibrina, hemácias e outras partículas. As amostras de soro de pacientes recebendo terapia anticoagulante ou trombolítica podem conter fibrina devido à formação incompleta do coágulo. Certifique-se de que as amostras estejam entre 20 - 25 °C antes da medição.

Deve ser criado um Procedimento Operacional Padrão (POP) que estabeleça procedimentos adequados para coleta, preparação e armazenamento da amostra. Enfatizamos que a incidência de erros pré analíticos podem ser muito maiores que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

Materiais necessários e não fornecidos

1. Concentrated Wash Buffer Ref. 4001 ou Wash Buffer Ref. 4100.
2. Trigger Solution Ref. 4002.
3. Pre-Trigger Solution Ref. 4003.
4. System Maintenance Fluid Ref. 4004.
5. Sample Diluent A Ref. 4060.
6. Água deionizada ou destilada
7. Cubetas de reação para equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Procedimento de ensaio . Todas as informações necessárias para a operação correta são lidas pelo equipamento a partir dos respectivos códigos de barras e *QR Code*. Para um melhor desempenho do ensaio, consulte o manual do usuário para obter instruções específicas do analisador. Após a etapa de homogeneização e repouso de 1 hora insira os reagentes na bandeja de reagentes do analisador. O sistema regula automaticamente a temperatura dos reagentes. O volume de amostra necessário para um teste é de 25 µL sem considerar o volume morto e volume adicional na pipetagem da amostra, descritos no manual do equipamento.

Calibração . Rastreabilidade: Este método é rastreável a padrões de referência internos que passaram por uma atribuição de valor único para se alinhar com outros ensaios disponíveis comercialmente.

Todo kit de Cyfra 21-1 Reagent Kit Ref. 4030 é rotulado com um *QR Code* contendo informações específicas de calibração por lote. A *Master Curve* predefinida é adaptada ao analisador usando dois calibradores que acompanham o kit. Os controles (CONTROL 1 e CONTROL 2) devem ser ensaiados para avaliar a calibração do produto.

Depois que uma calibração é aceita e armazenada, todas as amostras subsequentes podem ser testadas sem calibração adicional.

Uma nova calibração deve ser executada nas seguintes condições:

- Um kit de reagente com um novo número de lote for utilizado;
- Quando os controles da qualidade não atenderem os limites estabelecidos;
- Depois de 21 dias, quando utilizado o mesmo lote de reagente;
- Após a manutenção de peças ou subsistemas críticos, ou, após a execução dos procedimentos de serviço no analisador.

Controle da qualidade . O laboratório deve manter um programa de controle interno da qualidade que defina claramente os regulamentos aplicáveis, objetivos, procedimentos, critérios para especificações da qualidade e limites de tolerância, ações corretivas e registro das atividades. Materiais de controle devem ser utilizados para monitorizar a imprecisão da medição e desvios da calibração. Recomenda-se utilizar os controles da qualidade CONTROL 1 e CONTROL 2 contidos no kit para controle interno da qualidade.

Valores especificados para os controles . Os valores especificados para o CONTROL 1 e para o CONTROL 2 podem ser encontrados após a leitura de seu *QR Code*, presente na rack de

reagent, pelo equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Para o equipamento Vercentra CS-1500: após a leitura do *QR Code*, deve-se clicar no ícone CTL, que é a interface de Controle de Qualidade, e selecionar o parâmetro a ser analisado. Para consultar o limite superior UL (*Upper Limit*), o inferior LL (*Lower Limit*) e a média (*Target*), deve-se selecionar o nível e o lote de controle que será avaliado.

Para outros modelos de equipamentos dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest: consultar o manual do usuário.

Esses valores também podem ser encontrados no certificado de análise de cada lote do produto que está disponível no site www.labtest.com.br.

Resultados

Cálculos . O ensaio Cyfra 21-1 utiliza um método de redução de dados com adaptação da curva logística de 4 parâmetros (4PLC) para gerar a calibração e resultados.

Procedimentos de diluição de amostras . Amostras com concentrações de Cyfra 21-1 acima da faixa de medição devem ser diluídas com Sample Diluent A Ref. 4060. A diluição recomendada é 1:2 (automática pelos analisadores ou manualmente). Após a diluição manual, multiplique o resultado pelo fator de diluição. Após a diluição pelos analisadores, o software considera automaticamente a diluição ao calcular a concentração da amostra.

Limitações do procedimento

- Os resultados devem ser usados em conjunto com outros dados, por exemplo, sinais e sintomas, resultados de outros testes e dados clínicos. Se os resultados de Cyfra 21-1 forem inconsistentes com as evidências clínicas, testes adicionais são recomendados.
- Amostras de pacientes que receberam preparações de anticorpos monoclonais de camundongos para diagnóstico ou terapia, podem conter anticorpos humanos anti-camundongos (HAMA). Essas amostras podem mostrar valores falsamente elevados ou baixos quando testadas com kits de ensaio, como Cyfra 21-1, que emprega anticorpos monoclonais de camundongo. Informações clínicas ou diagnósticas adicionais podem ser necessárias para determinar o estado do paciente^{8,9}. Anticorpos heterofílicos no soro humano podem reagir com imunoglobulinas, interferindo nos imunoenaios in vitro. Pacientes rotineiramente expostos a animais ou a produtos de soro animal podem ser propensos a essa interferência, e valores anômalos podem ser observados. Informações adicionais podem ser necessárias para o diagnóstico¹⁰.
- O valor de Cyfra 21-1 deve ser usado em conjunto com outros procedimentos de diagnóstico. O ensaio Cyfra 21-1 não deve ser usado como teste de triagem de câncer.

Características de desempenho . Dados de desempenho representativos são fornecidos nesta seção. Os resultados obtidos em laboratórios individuais podem variar.

Limites inferiores de medição . O Limite do Branco $\leq 0,1$ ng/mL foi obtido através de 60 replicatas de uma amostra sem analito. Esse limite foi determinado de acordo com o CLSI EP17-A2¹¹.

O Limite de Detecção de 0,094 ng/mL foi determinado com base no Limite do Branco e no desvio padrão de uma amostra de baixa concentração (n=20).

O Limite de Quantificação 0,50 ng/mL foi obtido utilizando a menor concentração de analito que pode ser medida de forma reprodutível com coeficiente de variação (CV) $\leq 20\%$.

Faixa de medição . 0,50 a 200,00 ng/mL. Valores abaixo do limite de detecção são reportados como $< 0,50$ ng/mL. Valores acima da faixa de medição são reportados como $> 200,00$ ng/mL.

Estudo de comparação de métodos . O método proposto foi comparado com o método de tecnologia similar, sendo obtidos os seguintes resultados:

	Método Comparativo	Método Labtest
Número de amostras	50	
Equação da regressão	Método Labtest = $0,9799 \times$ Método comparativo -0,1583	
Coefficiente de correlação	0,9981	

Utilizando a equação da regressão, o Erro Sistemático (Bias) foi igual a -8,71% e -2,15% em concentrações de 2,37 ng/mL e 115,44 ng/mL, respectivamente. Os resultados do estudo comparativo atendem à especificação do Erro Sistemático ($\leq 10\%$).

Valores esperados . A concentração de Cyfra 21-1 em soro de pacientes saudáveis é menor do que 3,93 ng/mL. Cada laboratório deve investigar a adequação dos valores esperados para sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar seus próprios intervalos de referência.

Imprecisão . Os estudos de imprecisão foram realizados utilizando duas amostras.

Repetibilidade (imprecisão intraensaio)

	N	Média (ng/mL)	DP	CV (%)
Amostra 1	20	5,0	0,7	1,48
Amostra 2		105,68	1,82	1,73

DP = desvio padrão/ CV = coeficiente de variação

Reprodutibilidade (imprecisão total)

	N	Média (ng/mL)	DP	CV (%)
Amostra 1	20	5,0	0,09	1,76
Amostra 2		105,68	2,23	2,11

DP = desvio padrão/ CV = coeficiente de variação

Os resultados indicam que o método atende a especificação desejável para Coeficiente de Variação ($\leq 8\%$ para repetibilidade e $\leq 10\%$ para reprodutibilidade).

Interferência

O Cyfra 21-1 Reagent Kit Ref. 4030 não apresentou interferência significativa das substâncias citadas a seguir.

Substâncias	Concentrações
Hemoglobina	$\leq 1,5$ g/dL
Bilirrubina	≤ 65 mg/dL
Triglicérides	≤ 1500 mg/dL
Biotina	≤ 50 ng/mL

Efeito pró-zona . Não foi observado efeito pró-zona em amostras com concentrações de Cyfra21-1 até 1000 ng/mL.

Referências

1. Okamura, K., Takayama, K., Izumi, M., et al. Diagnostic value of CEA and CYFRA 21-1 tumor markers in primary lung cancer. Lung Cancer 80, 45–49 (2013).
2. Edelman, M. J., Hodgson, L., Rosenblatt, P. Y., et al. CYFRA 21-1 as a Prognostic and Predictive Marker in Advanced Non–Small-Cell Lung Cancer in a Prospective Trial: CALGB 150304. Journal of Thoracic Oncology 7, 649–654 (2012).
3. Huang, Y.-L., Chen, J., Yan, W., et al. Diagnostic accuracy of cytokeratin-19 fragment (CYFRA 21-1) for bladder cancer: a systematic review and meta-analysis. Tumour Biol 36, 3137–3145 (2015).
4. Liu, L., Xie W., Xue P., et al. Diagnostic accuracy and prognostic applications of CYFRA 21-1 in head and neck cancer: A systematic review and meta-analysis. PLoS One 14, e0216561 (2019).
5. Molina, R., Filella, X., Augé, J. M., et al. CYFRA 21.1 in patients with cervical cancer: comparison with SCC and CEA. Anticancer Res 25, 1765–1771 (2005).
6. Dall’Olio, F. G., Abbati, F., Facchinetti, F., et al. CEA and CYFRA 21-1 as prognostic biomarker and as a tool for treatment monitoring in advanced NSCLC treated with immune checkpoint inhibitors. Ther Adv Med Oncol 12, 1758835920952994 (2020).
7. World Health Organization. Diagnostic Imaging and Laboratory Technology. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/65957>. (2002).
8. Nussbaum S, Roth HJ. Human anti-mouse antibodies: pitfalls in tumor marker measurement and strategies for enhanced assay robustness; including results with Elecsys CEA. Anticancer Res. 20(6D):5249-5252. (2000).
9. Tate J, Ward G. Interferences in immunoassay. Clin Biochem Rev. 25(2):105-120. (2004).
10. Ward G, McKinnon L, Badrick T, Hickman PE. Heterophilic antibodies remain a problem for the immunoassay laboratory. Am J Clin Pathol. 108:417–21. (1997).
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation. Approved guideline - Second edition. CLSI document EP17-A.

Wayne, PA. (2004).

12. Tietz, N.W., Clinical Guide to Laboratory Tests, 4nd Edition, W.B. Saunders, 2006.

13. Labtest: Dados de arquivo

Para informações sobre outras apresentações comerciais consulte o site www.labtest.com.br ou entre em contato com o SAC.

Informações ao consumidor

[Termos e Condições de Garantia]

A **Labtest Diagnóstica** garante o desempenho deste produto, dentro das especificações, até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções sejam seguidos corretamente.



Labtest Diagnóstica S.A.

CNPJ: 16.516.296/0001-38

Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP: 33240-152

Lagoa Santa, Minas Gerais - Brasil - www.labtest.com.br

Serviço de Apoio ao Cliente | 0800 031 3411 (Ligação Gratuita)
e-mail: sac@labtest.com.br

Edição: Outubro, 2024

Revisão: Janeiro, 2025

Ref.: 240725(02)

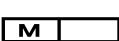
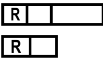
Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.

Reprodução sob prévia autorização

Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro

Symbols used with IVD devices

	Conteúdo suficiente para < n > ensaios Contenido suficiente para < n > ensayos Sufficient content for < n > trials		Risco biológico Riesgo biológico Biological risk
	Prazo de validade (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa) Fecha de expiración (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Expiration date (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		Corrosivo Corrosivo Corrosive
	Limite de temperatura (conservar a) Temperatura límite (conservar a) Temperature limit (store at)		Tóxico Tóxico Poison
	Representante Autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		Marca CE Marcado CE CE Mark
	Carcinogénico/mutagénico e/ou sensibilizante à respiração Carcinogénico/mutagénico y/o sensibilizante respiratorio Carcinogenic/mutagenic and/or respiratory sensitizer		Atenção Atención Attention
	Tóxico para os organismos aquáticos Tóxico para los organismos acuáticos Toxic for aquatic organisms		Data de fabricação Fecha de fabricación Date of manufacture
	Gases/líquidos combustíveis Gases/líquidos oxidantes Oxidizing gases/liquids		Fabricante Fabricante Manufacturer
	Substância inflamável Sustancia inflamable Flammable substance		Uso veterinário Uso veterinario Veterinary use
	Período após abertura Período post-abertura Period after-opening		Liofilizado Liofilizado Lyophilized
	Produto de uso único Producto de un solo uso Single use product		Número do lote Denominación de lote Batch code
	Consultar instruções de uso Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		Número do catálogo Número de catálogo Catalog Number
	Instalar até Instalar hasta Install before		Controle Control Control
	Material Calibrador/Padrão Material Calibrador/Estándar Calibrator/Standard Material		Controle negativo Control negativo Negative control
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro Dispositivo médico para diagnóstico in vitro In vitro diagnostic medical device		Controle positivo Control positivo Positive control
	Reagente contendo micropartículas Reactivo con micropartículas Reagent with microparticles		Reagente Reactivo Reagent
	Identificador único do dispositivo Identificador único del dispositivo Unique device identifier		Pré-Tratamento Pretratamiento Pre-Treatment

Ref.: 160125 |