

AFP Reagent Kit

Instruções de Uso

Ref.: **4007**

ANVISA 10009010425

REF 4007-50, 50 testes/kit

REF 4007-100, 100 testes/kit

Uso pretendido . Detecção quantitativa automática da alfa fetoproteína (AFP) em soro humano, utilizado para auxílio no diagnóstico, monitoramento e prognóstico de carcinoma hepatocelular.

Uso profissional.

[Somente para uso diagnóstico in vitro]

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

Resumo . A alfa fetoproteína (AFP) é uma glicoproteína com o peso molecular que varia de 68 a 73 kDa¹ e é produzida pelo saco vitelino e pelo fígado do feto durante o desenvolvimento fetal². O nível de AFP no sangue de adultos saudáveis é baixo. Níveis altos de AFP são vistos em adultos com carcinoma hepatocelular, por isso ela é usada como biomarcador para monitoramento dessa doença³. A análise dos níveis séricos de AFP pode levar a um aumento de 6% na taxa de detecção de carcinoma hepatocelular precoce⁴.

Altos níveis de AFP são vistos principalmente em carcinoma hepatocelular primário, mas eles também podem estar elevados quando o indivíduo apresenta outros tumores, como o câncer de testículo, estômago e embrionário. Em câncer de fígado metastático, os níveis de AFP geralmente são baixos⁵.

Alguns pacientes portadores de câncer hepático não apresentam níveis de AFP significativamente elevados, mas é importante salientar que níveis baixos de AFP estão associados a resultados de tratamentos promissores⁶. Dessa forma, AFP também pode funcionar como um marcador de prognóstico.

Princípio do teste . O ensaio AFP é um imunensaio tipo sanduíche para determinar a presença de AFP no soro humano usando a técnica de análise por quimioluminescência (CLIA).

Na primeira etapa, durante a incubação, a AFP presente na amostra de soro se liga às micropartículas paramagnéticas revestidas com anti-AFP.

Após a lavagem para remover o excesso da AFP que não foi capturada, é adicionado o conjugado contendo anti-AFP marcado com acridina, que se ligará à AFP capturada na etapa anterior. O excesso de conjugado é retirado com um novo procedimento de lavagem. As soluções de Pre-Trigger e Trigger são então adicionadas à mistura contendo conjugado, AFP e micropartículas paramagnéticas revestidas com anti-AFP.

A reação quimioluminescente resultante é medida como unidades relativas de luz (RLU's). A quantidade de RLU's detectada é proporcional à quantidade de AFP presente na amostra.

Reagentes

Reagentes - soluções de trabalho

REF	4007-50	4007-100
Testes por kit	50	100
R1	6,0 mL	11,0 mL
M	6,0 mL	11,0 mL
CAL1	0,5 mL	0,5 mL
CAL2	0,5 mL	0,5 mL
CONTROL1	0,5 mL	0,5 mL
CONTROL2	0,5 mL	0,5 mL
Tampas de silicone	2	2

R1 - Conjugado anti-AFP $\leq 0,6 \mu\text{g/mL}$ marcado com acridina $\leq 2,18 \mu\text{g/mL}$ em tampão $\leq 38,4 \text{ mg/mL}$, surfactante, estabilizadores de proteína, bloqueador e conservante.

M - Micropartículas $\leq 0,12 \text{ mg/mL}$ revestidas com anti-AFP $\leq 1,2 \mu\text{g/mL}$ em tampão $\leq 38,4 \text{ mg/mL}$, surfactante, estabilizadores de proteína e conservante.

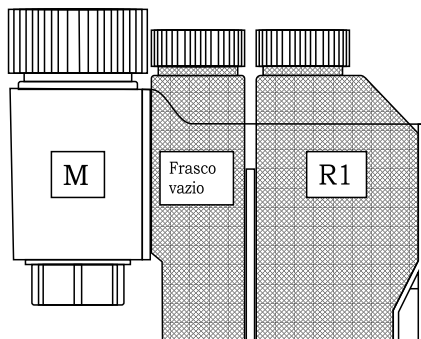
CAL1 - Antígeno AFP em tampão $\leq 38,4 \text{ mg/mL}$ com estabilizadores de proteína e conservante.

CAL2 - Antígeno AFP em tampão $\leq 38,4 \text{ mg/mL}$ com estabilizadores de proteína e conservante.

CONTROL1 - Controle Positivo 1 (nível baixo): Antígeno AFP em tampão $\leq 38,4 \text{ mg/mL}$ com estabilizadores de proteína e conservante.*

CONTROL2 - Controle Positivo 2 (nível alto): Antígeno AFP em tampão $\leq 38,4 \text{ mg/mL}$ com estabilizadores de proteína e conservante.*

*Para a 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 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.
- 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 Reagente M próximo a campos eletromagnéticos intensos.
- Não separar o volume de nenhum dos componentes do kit em aliquotas.

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.

Armazenamento e estabilidade . Não congelar. Armazene o AFP Reagent Kit Ref. 4007 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 apresentada
Aberto a 2 - 8 °C	45 dias
On board	28 dias

Indicações de deterioração dos reagentes R1 e M . A deterioração de ambos os 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 soros coletados em tubos com ou sem gel separador.

A amostra é estável por 3 dias a 20 - 25 °C, 7 dias a 2 - 8 °C, 3 meses a -20 °C ($\pm 5^{\circ}\text{C}$)⁷.

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 em 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 os erros relacionados à amostra podem ser muito maiores que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

Procedimento

Materiais fornecidos . Consulte a seção "reagentes - soluções de trabalho" para reagentes.

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. Cubetas de reação para o 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 10 μL sem considerar o volume morto e volume adicional na

pipetagem da amostra, descritos no manual do equipamento.

Calibração . Rastreabilidade: Este método é rastreável ao material de referência WHO International Standard AFP - 72/225.

Todo kit de AFP Reagent Kit Ref. 4007 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 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 um novo lote for utilizado;
- Quando os controles da qualidade não atenderem os limites estabelecidos;
- Depois de 14 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 reagente, pelo equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Para o equipamento Vercentra CS-1500: após a leitura da *QR Code*, deve-se clicar no ícone CTL, que é a interface de Controle da 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, dedicados 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

Cálculo . O ensaio AFP utiliza um método de redução de dados com adaptação da curva logística de 4 parâmetros (4PLC, Y- ponderado) para gerar a calibração e resultados.

Procedimentos de diluição de amostra . Amostras com concentrações de AFP acima da faixa de medição devem ser diluídas

com Sample Diluent A. A diluição recomendada é 1:50 (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 AFP 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 AFP, que emprega anticorpos monoclonais de camundongos. 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 imunoensaios 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 diagnóstico.¹⁰
- O valor de AFP deve ser usado em conjunto com outros procedimentos de diagnóstico. O ensaio AFP 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 ≤ 0,05 UI/mL foi obtido através de 60 replicatas de uma amostra sem analito. Esse limite foi determinado de acordo com o CLSI EP17-A.¹¹

O Limite de Detecção de 0,045 UI/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 0,4 UI/mL foi obtido utilizando a menor concentração de analito que pode ser medida de forma reprodutível com CV ≤ 20%.

Faixa de medição . 1 a 800 UI/mL. Valores abaixo do limite de detecção são reportados como < 1 UI/mL. Valores acima da faixa de medição são reportados como > 800 UI/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	40	
Equação da regressão	Método Labtest = 1,059 x Método comparativo - 0,1928	
Coefficiente de correlação	0,9993	

Utilizando a equação da regressão, o erro sistemático (bias) foi igual a 2,58% e 5,86% em concentrações de 5,8 UI/mL e 500 UI/mL, respectivamente. Os resultados do estudo comparativo atendem à especificação do Erro sistemático ($\leq 10\%$).

Valores esperados . A concentração de AFP em soro de pacientes saudáveis é menor do que 5,8 UI/mL¹². 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 amostras com concentrações médias de 6 e 386 UI/mL de AFP.

Repetitividade - imprecisão intraensaio

	N	Média (UI/mL)	DP	CV (%)
Amostra 1	20	6,05	0,28	4,62
Amostra 2		387,24	13,92	3,60

Reprodutibilidade - imprecisão total

	N	Média (UI/mL)	DP	CV (%)
Amostra 1	40	5,95	0,28	4,69
Amostra 2		386,33	17,18	4,45

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

Interferência

O AFP Reagent Kit Ref. 4007 não apresentou interferência significativa das substâncias citadas a seguir.

Substância potencialmente interferente	Concentrações testadas
Hemoglobina	$\leq 2,2$ g/dL
Bilirrubina	≤ 65 mg/dL
Triglicérides	≤ 1500 mg/dL
Biotina	≤ 180 ng/mL

Referências

1. Terentiev, A. A. & Moldogazieva, N. T. Alpha-fetoprotein: a renaissance. Tumor Biol. 34, 2075-2091 (2013).

2. Gitlin, D. & Boesman, M. Sites of serum alpha-fetoprotein synthesis in the human and in the rat. J Clin Invest 46, 1010-1016 (1967).

3. Ruoslahti, E. & Seppälä, M. -Fetoprotein in normal human serum. Nature 235, 161-162 (1972).

4. Vogel, A. et al. Hepatocellular carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Annals of Oncology 29 (Supplement 4): iv238-iv255, (2018).

5. Gilligan, T. et al. Testicular Cancer, Version 2.2020, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Journal of the National Comprehensive Cancer Network 17, 1529-1554 (2019).

6. Farinati, F. et al. Diagnostic and Prognostic Role of α -Fetoprotein in Hepatocellular Carcinoma: Both or Neither? Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG 101, 524 (2006).

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. Roche Diagnostic GmbH. Instruction for use: Elecsys AFP Ref. 04481798 190. Cobas. V 14. (2018-10).

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.

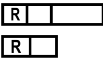
CNPJ: 16.516.296/0001-38
Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP: 33240-152
Lagoa Santa, Minas Gerais - Brasil - www.labtest.com.br
Serviço de Apoio ao Cliente | 0800 031 3411 (Ligação Gratuita)
e-mail: sac@labtest.com.br

Edição: Janeiro, 2024
Revisão: -
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 |