

**AFP****Alpha-fetoprotein (CLIA)****Order information**

Catalog No.	Package Size
AFP111	2×50 tests
AFP112	2×100 tests

**Intended Use**

The CL-series AFP assay is a Chemiluminescent Immunoassay (CLIA) for the quantitative determination of alpha-fetoprotein (AFP) in human serum or plasma.

**Summary**

Alpha-fetoprotein (AFP) is an embryo-specific alpha-globulin and a single polypeptide chain glycoprotein with a molecular weight of approximately 70,000 Daltons. It is the main protein in the fetal circulation, as well as albumin. Synthesis of AFP occurs primarily in the yolk sac, liver and gastro-intestinal tract of the fetus.<sup>1</sup> It is secreted into fetal serum and can be detected in fetal circulation as early as 30 days after gestation. It reaches a peak at about 13 weeks gestation and gradually declining thereafter.<sup>2, 3</sup> Elevated serum AFP levels subsequently reappear during pregnancy and in conjunction with several malignant diseases.<sup>2, 4</sup>

Elevated serum AFP levels can be detected in about 80% patients of hepatic carcinoma and 50% patients of germ cell tumors. It is also can be detected in other patients such as patients of gastro-intestinal tumor. Synthesis of AFP is obviously elevated in hepatic carcinoma even though the corpus carcinosus is very small. So, hepatic carcinoma can be detected as early as possible by AFP detection, in conjunction with some other tests.<sup>5, 6</sup> Serum AFP has also been found to be elevated during pregnancy, in diseases such as acute viral hepatitis, chronic active hepatitis and cirrhosis, but not as high as hepatic carcinoma. The level of serum AFP in patients of cirrhosis is generally between 25 and 200 ng/mL, and gradually declines with the growing well of patients' condition with 2 months. The elevated level of serum AFP generally accompanies an elevate level of transaminase. If the level of serum AFP is elevated while the level of transaminase is declined, or the level of serum AFP is more than 500 ng/mL, it is highly possible to be hepatic carcinoma.<sup>6,7,8</sup> AFP testing is not recommended as a screening procedure to detect cancer in the general population.

**Assay Principle**

The CL-series AFP assay is a two-site sandwich assay to determine the level of AFP.

In the first step, sample, paramagnetic microparticles coated with mouse monoclonal anti-AFP antibody and mouse monoclonal anti-AFP antibody alkaline phosphatase labeled conjugate are added into a reaction vessel. After incubation, AFP present in the sample binds to the mouse monoclonal anti-AFP antibody coated microparticles. Meanwhile, the mouse monoclonal anti-AFP

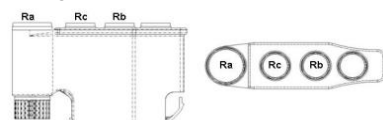
antibody alkaline phosphatase labeled conjugate binds to another reaction site of the AFP to form a sandwich complex. Microparticles are magnetically captured while other unbound substances are removed by washing.

In the second step, the substrate solution is added to the reaction vessel. It is catalyzed by mouse monoclonal anti-AFP antibody-alkaline phosphatase conjugate in the immunocomplex retained on the microparticle. The resulting chemiluminescent reaction is measured as relative light units (RLUs) by a photomultiplier built into the system. The amount of AFP present in the sample is proportional to relative light units (RLUs) generated during the reaction. The AFP concentration can be determined via a calibration curve.

**Reagent Components**

Ra	Paramagnetic microparticles coated with monoclonal anti-AFP antibody (mouse) in TRIS buffer with preservative.
Rb	Monoclonal anti-AFP antibody (mouse)-alkaline phosphatase conjugate in PBS buffer with preservative.
Rc	TRIS buffer with preservative.

The position of each reagent component is shown in the figure below (front view on the left and top view on the right):

**Storage and Stability**

The unopened AFP (CLIA) reagent kit is stable up to the stated expiration date when stored at 2-8°C. The AFP (CLIA) reagent kit can be stored onboard and used for a maximum of 56 days after opening at 2-8°C.

**Reagent Preparation**

Ra: Ready to use  
Rb: Ready to use  
Rc: Ready to use

**Materials Required But Not Provided**

Mindray CL-series Chemiluminescence Immunoassay Analyzer  
Catalog No. AFP211: Mindray AFP Calibrators. 1×2.0 mL for each of calibrator C0, C1 and C2.  
Cat.No.TML311/TML312/TML313/TML314: Mindray Tumor Marker Multi Control (L), 6×5.0 mL/12×5.0 mL/1×5.0 mL/3×5.0 mL.  
Cat.No.TMH311/TMH312/TMH313/TMH314: Mindray Tumor Marker Multi Control (H), 6×5.0 mL/12×5.0 mL/1×5.0 mL/3×5.0 mL.  
Cat.No.TML321/TML322/TML323/TML324: Mindray Tumor Marker Multi Control (L), 1×5.0 mL/3×5.0 mL/6×5.0 mL/12×5.0 mL.  
Cat.No.TMH321/TMH322/TMH323/TMH324: Mindray Tumor Marker Multi Control (H), 1×5.0 mL/3×5.0 mL/6×5.0 mL/12×5.0 mL.  
Cat.No.WB411: Mindray Wash Buffer, 1×10 L.

Cat.No.CS511/CS512: Mindray Substrate Solution, 4×115 mL/4×75 mL.

Mindray Reaction Vessels

**Applicable Instrument**

Mindray CL-series Chemiluminescence Immunoassay Analyzer

**Specimen Collection and Preparation**

Human serum or plasma collected in EDTA, sodium heparin and lithium heparin are recommended for this assay.

Centrifuge the specimens after clot formation is complete. Transfer the supernatants into tubes for storage or test within two hours after centrifugation. Specimens should be tested as soon as possible after sample collection. If testing is not completed within 8 hours, specimens should be tightly capped and refrigerated at 2-8°C. If testing will be delayed for more than 72 hours, specimens should be frozen at -20°C or below.

Avoid repeated freeze and thaw cycles.

**Assay Procedure**

For optimal performance of this assay, operators should read the related system operation manual carefully, to get sufficient information such as operation instructions, sample preservation and management, safety precaution, and maintenance. Prepare all required materials for the assay as well. Before loading the AFP (CLIA) reagent kit on the machine for the first time, unopened reagent bottle should be inverted gently for at least 30 times to resuspend the microparticles that have settled during shipment or storage. Visually inspect the bottle to ensure the microparticles have been resuspended. If the microparticles remain adhered to the bottle, continue inverting until the microparticles have been completely resuspended. If the microparticles cannot be resuspended, it is recommended not to use this bottle of reagent. Contact Mindray Customer Service for help. Do not invert opened reagent bottle.

This assay requires 15 µL of sample for a single test. This volume does not include the dead volume of the sample container. Additional volume is required when performing additional tests from the same sample. Operators should refer to the system operation manual and specific requirement of the assay to determine the minimum sample volume.

**Calibration**

CL-series AFP (CLIA) has been standardized against the WHO International Standard Alphafoetoprotein (NIBSC code: AFP).

The specific information of master calibration curve of AFP (CLIA) reagent kit is stored in the two-dimensional barcode attached in the reagent pack. It's used together with calibrators for the calibration of the specific reagent lot. When performing the calibration, scan the information of master calibration curve from the barcode into the system first, and then use the calibrators at three levels. Valid calibration curve is required before any AFP test. Recalibration is recommended every 4 weeks, or when a new reagent lot is used, or the

quality controls are out of specified range. For detailed instruction of calibration, refer to the system operation manual.

**Quality control**

It is recommended that quality controls should be run once every 24 hours if the tests are in use, or after every calibration. The quality control frequency should be adapted to each laboratory's individual requirements. The recommended two levels of quality controls for this assay are Mindray Tumor Marker Multi Control (L) and Tumor Marker Multi Control (H).

Quality control results should be within the acceptable ranges. If a control is out of its specified range, the associated test results are invalid and the samples must be retested. Recalibration may be required. Examine the assay system referring to the system operation manual. If the quality control results are still out of the specified range, please contact Mindray Customer Service for help.

**Calculation**

The analyzer automatically calculates the analyte concentration of each sample on the master calibration curve read from the barcode, and a 4-Parameter Logistic Curve Fitting (4PLC) with the relative light units (RLUs) generated from three level calibrators of defined concentration values. The results are shown in the unit of ng/mL.  
Conversion factors: ng/mL × 0.83 = IU/mL  
IU/mL × 1.21 = ng/mL

**Dilution**

Samples with AFP concentrations above the upper limit can be diluted with Mindray Sample Diluent. The recommended dilution is 1:40 (either automatically by the analyzer or manually). The concentration of the diluted sample must be > 10 ng/mL. After manual dilution, multiply the result by the dilution factor. After automated dilution by the analyzers, the system automatically multiply the result by the dilution factor when calculating the sample concentration.

**Expected values**

An extended study on a cohort of 736 healthy individuals (345 males and 391 females) has determined the reference range of CL-series AFP assay.

Category	N	97.5% Percentile
Male	345	7.2 ng/mL
Female	391	7.4 ng/mL
Total	736	7.0 ng/mL

Due to the variation in geography, race, sex, and age, it is highly recommended that each laboratory should establish its own reference range.

**Limitation**

This kit is NOT intended to be used for the risk evaluation of trisomy 21.

The upper limit of this assay is 1210 ng/mL. A specimen with a AFP concentration lower than the upper limit can be quantitatively determined, while specimen with a concentration higher than the upper limit will be reported as >1210 ng/mL or diluting the samples with Mindray Sample Diluent.

The concentration of AFP in a given specimen, determined with assays from different manufacturers, can vary due to differences in assay methods, calibration, and reagent specificity. The assay results should be used in conjunction with other data, such as symptoms, results of other tests, clinical history, etc.

Specimen from individuals who have been exposed to mouse monoclonal antibodies may contain human anti-mouse antibodies (HAMA). Such specimens may show either falsely elevated or depressed values with assay kits employing mouse monoclonal antibodies. However, no obvious interference of HAMA was observed in this assay.

### Performance Characteristics

#### Analytical Sensitivity/Limit of Detection

The AFP (CLIA) reagent kit has an analytical sensitivity of  $\leq 0.5$  ng/mL. Analytical sensitivity is defined as the lowest concentration of analyte that can be differentiated from a sample that contains no analyte. It is defined as the AFP concentration at two standard deviations above the mean RLU from 20 measurements of an analyte-free sample.

#### Reportable Range

Reportable range is defined by the analytical sensitivity and the upper limit of the master calibration curve. The reportable range of AFP (CLIA) reagent kit is 0.5-1210 ng/mL (or the upper limit is up to 48400 ng/mL for 40-fold diluted samples).

#### Specificity

Hemoglobin up to 500 mg/dL, bilirubin up to 20 mg/dL, triglycerides up to 520 mg/dL, and total protein up to 10.0 g/dL will not interfere with the CL-series AFP assay. These substances show less than 10% interferences at indicated concentration. No obvious interference was observed from rheumatoid factor up to 1500 IU/mL or antinuclear antibody up to 4000 U/L.

No significant cross-reactivity was observed when human chorionic gonadotropin (HCG),  $\alpha$ -1 acid glycoprotein, transferrin,  $\alpha$ -1 antitrypsin and prolactin (PRL) were added to the AFP Calibrator C0, at specific levels indicated in the table below. The results showed no more than 2.0 ng/mL in the CL-series AFP assay at the levels indicated below.

Substrates	Cross-reactant Concentration
HCG	1000 mIU/mL
$\alpha$ -1 acid glycoprotein	2 mg/mL
Transferrin	400 mg/ dL
$\alpha$ -1 antitrypsin	500 mg/dL
PRL	50,000 mIU/L

Interference substance tests were performed on 6 commonly used pharmaceuticals. These compounds showed less than 10% interference in the CL-series AFP assay at the levels indicated below.

Test Compound	Interference Substance Concentration
Acetaminophen	200 $\mu$ g/mL

Acetylsalicylic acid	0.50 mg/mL
Cisplatin	100 $\mu$ g/mL
Ascorbic acid	1000 $\mu$ g/mL
Cyclophosphamide	25 mg/ dL
Vincristine	70 mg/ dL

Mindray AFP Calibrator C0 was supplemented with other tumor markers, such as Prostate-Specific Antigen (PSA), cancer antigen 125 (CA125), cancer antigen 15-3 (CA15-3), carbohydrate antigen 19-9 (CA19-9), carcinoembryonic antigen (CEA) and ferritin (FERR) at specific levels indicated in the table below. No obvious cross reactivity was observed as all the results were  $\leq 5.0$  ng/mL. The results are stated in the table below.

Tumor Marker	Cross-reactant Concentration	Reported AFP (ng/mL)	Acceptance Criteria
PSA	100 ng/mL	0.00	Reported AFP $\leq 5.0$ 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	

#### High Dose Hook

For the CL-series AFP assay, no high dose hook effect was observed when samples containing up to approximately 120,000 ng/mL of AFP were assayed.

#### Accuracy

A sample of WHO International Standard Alphafoetoprotein (NIBSC code: AFP) with traceable and defined value was used to verify the accuracy of this assay. The results showed that the relative deviation was less than  $\pm 10\%$ . The results are listed in the following table.

Sample	Measured AFP Value (ng/mL)	Defined AFP Value (ng/mL)	Relative Deviation
WHO AFP	112.64	116.83	-3.59%

#### Precision

The CL-series AFP assay is designed to have a precision of  $\leq 10\%$  (within-device CV). Precision was determined by following National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) Protocol EP5-A2.9 Two levels of quality controls were tested in duplicate in two separate runs per day, for a total of 20 days, using a single lot of reagents and a single calibration curve. The precision data are summarized in the table below.

Sample	Mean AFP (ng/mL)	Within-run CV	Between-run CV	Within-Device CV
1	10.32	2.92%	3.17 %	4.57 %
2	104.22	2.99%	2.52 %	3.98 %

#### Linearity

A high concentration AFP sample (approximately 400 ng/mL) was mixed with a low concentration

sample ( $< 1.0$  ng/mL) at different ratios, generating a series of dilutions. The AFP of each dilution was determined using the Mindray CL-Series AFP Assay. Linearity was demonstrated in the range of 1.0 ng/mL to 400 ng/mL. The correlation coefficient  $r$  is  $\geq 0.9900$ . The linearity data are summarized in the table below.

Concentration (ng/mL)	1	2	3	4	5	6
Expected AFP	0.14	104.75	209.35	313.96	418.56	523.16
Measured AFP	0.14	103.14	208.47	313.14	415.70	523.16

#### Method Comparison

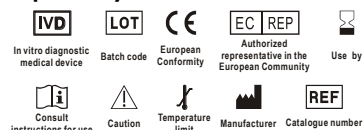
The Mindray CL-Series AFP Assay was compared to a commercially available diagnostic kit in a correlation study with about 1287 specimens. The statistical data obtained by Deming computing mode are shown in the table below.

Concentration Range (ng/mL)	Slope	Intercept	Correlation Coefficient
0.13-1476.15	0.949	0.115	0.996

#### Warnings and Precautions

- For in vitro diagnostic use only.
- Follow all the rules in handling laboratory reagents and take necessary safety precautions.
- Due to the differences in methodology and antibody specificity, test results of the same sample may be different when using reagent kits from different manufacturers on Mindray system, or using Mindray reagent kits on other systems.
- Do not use reagent kits beyond the expiration date.
- Do not use reagents mixed from different reagent lots.
- Always keep the reagent pack in the upright position to ensure no microparticle has been lost prior to use.
- Reagent pack opened for more than 56 days is not recommended for use.
- Reliability of assay results cannot be guaranteed if the instructions in this package insert are not followed.
- All the specimen and reaction wastes should be considered potentially biohazard. The handling of specimens and reaction wastes should be in accordance with the local regulations and guidelines.
- The Material Safety Data Sheet (MSDS) is available upon request.

#### Graphical symbols



#### References

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

human  $\alpha$ -fetoprotein. Int. J. Cancer 1971; 7: 218.

- Palomaki GE, Hill LE, Knight GJ, et al. Second Trimester Maternal Serum Alpha-Fetoprotein Levels in Pregnancies Associated with Gastroschisis and Omphalocele. Obstet Gynecol 1988; 71:906-9.
- Gitlin D, Perricelli A, Gitlin GM. Synthesis of  $\alpha$ -fetoprotein by liver, yolk sac, and gastrointestinal tract of the human conceptus. Cancer Res 1972; 32: 979.
- Nelson LH, Bensen J, Burton BK. Outcomes in Patients with Unusually High Maternal Serum Alpha-fetoprotein Levels. Am J Obstet Gynecol 1987; 157(3):572-5.
- Taketa K. Alpha-Fetoprotein in the 1990s. In: Sull SS. Serological cancer markers. Humana Press 1992: 31-46, ISBN: 0-89603-209-4.
- Silver HKB, Gold P, Feder S, Freedman SO, Shuster J. Radioimmunoassay for human alpha-fetoprotein. Proc Natl Acad Sci U.S.A. 1973; 70: 526-30.
- Perlin E, Engeler JE, Edson M, Karp D, McIntire KR, Waldmann TA. The value of serial measurement of both human chorionic gonadotropin and alpha-fetoprotein for monitoring germinal cell tumors. Cancer 1976; 37: 215-9.
- Endo Y, Kanai K, Oda T, Mitamura K, Iino S, Suzuki H. Clinical significance of  $\alpha$ -fetoprotein in hepatitis and liver cirrhosis. Ann NY Acad Sci 1975; 259: 234.
- NCCLS. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement method; approved guideline-second edition. 2004.

© 2013 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

All rights Reserved

**Manufacturer:** Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

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

**E-mail Address:** service@mindray.com

**Website:** www.mindray.com

**Tel:** +86-755-26582888

**Fax:** +86-755-26582680

**EC-Representative:** Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europe)

**Address:** Eiffestraße 80, Hamburg 20537, Germany

**Tel:** 0049-40-2513175

**Fax:** 0049-40-255726

## Альфа-фетопротеин (АФП)

### Информация для заказа

№ по каталогу	Фасовка
AFP111	2×50 тестов
AFP112	2×100 тестов

### Назначение

Анализ АФР серии CL является хемилюминесцентным иммунологическим анализом (ХЛИА) для количественного выявления альфа-фетопротеина (АФП) в человеческой сыворотке или плазме.

### Краткая справка

Альфа-фетопротеин (АФП) это специфический эмбриональный альфа-глобулин, представляющий собой гликопротеин с одной полипептидной цепью, молекулярной массой примерно 70,000 Да. Он является основным белком в кровеносной системе плода, наряду с альбумином. АФП синтезируется первично в желточном мешке, печени и желудочно-кишечном тракте плода.<sup>1</sup> Он секретируется в сыворотку крови плода и обнаруживается в крови с 30 дней после начала беременности. Пик концентрации отмечается к 13 неделе, затем концентрация постепенно снижается.<sup>2, 3</sup> Повышенный сывороточный уровень АФП в дальнейшем отмечается во время беременности и при некоторых злокачественных новообразованиях.<sup>2, 4</sup> Повышенный уровень АФП отмечается у 80 % пациентов с карциномой печени и у 50 % пациентов с гонциотомой. Также уровень АФП повышается у пациентов с опухолями желудочно-кишечного тракта. Синтез АФП увеличивается у пациентов с карциномой печени, даже когда размер первичной опухоли достаточно мал. Поэтому ранняя диагностика карциномы печени возможна при измерении АФП в сочетании с другими тестами.<sup>5, 6</sup> Сывороточный АФП также может повышаться во время беременности, при активном вирусном гепатите, хроническом гепатите и циррозе, но не в таких пределах как при карциноме печени. Уровень сывороточного АФП у пациентов с циррозом печени чаще всего составляет от 25 до 200 нг/мл, и постепенно уменьшается при улучшении состояния пациентов в течение 2 месяцев. Повышенный уровень сывороточного АФП зачастую сопровождается повышенным уровнем трансаминаз. Карцинома печени чаще возникает при повышении уровня АФП и уменьшении уровня трансаминаз, или при повышении уровня АФП более 500 нг/мл.<sup>6,7,8</sup>

Не рекомендуется использовать тестирование АФП в качестве скрининговой процедуры выявления онкологических заболеваний.

### Принципы количественного анализа

Анализ АФП серии CL является иммуноферментным двухсайтовым сэндвич анализом для определения уровня АФП. На первой стадии образец, парамагнитные микрочастицы, покрытые моноклональными мышиными анти-АФП антителами и моноклональные мышиные анти-АФП антитела конъюгированные с щелочной фосфатазой, дозируются в реакционную ячейку. При инкубации, АФП, который присутствует в образце, связывается с микрочастицами, покрытыми анти-АФП антителами. Одновременно конъюгат мышиных моноклональных анти-АФП антител с щелочной фосфатазой связывается другим участком АФП с формированием сэндвич комплекса. Микрочастицы захватываются

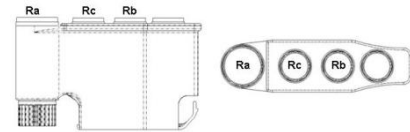
магнитом, в то время как несвязанные вещества удаляются промывкой.

Во второй стадии в реакционную ячейку добавляется раствор субстрата. Различие катализируется конъюгатом мышиных анти-АФП антител с щелочной фосфатазой иммунокомплекса, оставшегося на микрочастицах. Полученная хемилюминесцентная реакция измеряется в относительных световых единицах (ОСЕ) при помощи ФЭУ. Количество АФП в образце пропорционально количеству относительных световых единиц (ОСЕ) образованных в ходе реакции. Концентрация АФП определяется по калибровочной кривой.

### Компоненты реагента

Ra	Парамагнитные микрочастицы покрытые моноклональными мышиными анти-АФП антителами в Трис-буфере с консервантами
Rb	Моноклональные мышиные анти-АФП антитела конъюгированные с щелочной фосфатазой в фосфатном буферном растворе с консервантами.
Rc	Трис буфер с консервантами.

Расположение каждого компонента реагента показано на рисунке ниже (вид спереди слева и вид сверху справа):



### Условия хранения

Невыскранный набор реактивов АФП (ХЛИА) пригоден к использованию до даты окончания срока действия при температуре хранения 2-8 °С.

После вскрытия набора реактивов АФП (ХЛИА) он может храниться и использоваться в анализаторе в течение 56 дней после вскрытия упаковки при температуре 2-8 °С.

### Подготовка реактивов

Ra: Готов к использованию

Rb: Готов к использованию

Rc: Готов к использованию

### Необходимые материалы не входящие в комплект поставки

Анализатор Mindray серии CL для хемилюминесцентного иммунологического анализа

Каталожный номер AFP211: Mindray Калибровочные стандарты АФП. 1×2,0 мл для каждого калибровочного стандарта C0, C1 and C2.

Каталожный номер TML311/TML312/TML313/TML314: Mindray Мультиконтроль опухолевых маркеров (L), 6×5,0 мл/12×5,0 мл/1×5,0 мл/3×5,0 мл.

Каталожный номер TMH311/TMH312/TMH313/TMH314: Mindray Мультиконтроль опухолевых маркеров (H), 6×5,0 мл/12×5,0 мл/1×5,0 мл/3×5,0 мл.

Каталожный номер TML321/TML322/TML323/TML324: Mindray Мультиконтроль опухолевых маркеров (L), 1×5,0 мл/3×5,0 мл/6×5,0 мл/12×5,0 мл.

Каталожный номер TMH321/TMH322/TMH323/TMH324: Mindray Мультиконтроль опухолевых маркеров (H), 1×5,0 мл/3×5,0 мл/6×5,0 мл/12×5,0 мл.

№ по каталогу WB411: Mindray Промышочный буфер, 1×10 л.

Каталожный номер CS511/CS512: Mindray субстратный раствор, 4×115 мл/4×75 мл. Mindray Реакционные ячейки.

### Используемая аппаратура

Анализатор Mindray серии CL для хемилюминесцентного иммунологического анализа

### Сбор и подготовка образцов.

Рекомендуемые для данного метода образцы, это человеческая сыворотка крови или плазма с ЭДТА, гепарином натрия или гепарином лития. Образцы сыворотки центрифугируют после завершения образования густка в пробирке. Анализ должен быть проведен как можно скорее после подготовки проб. Храните сыворотку, отделив её от густка, или проведите анализ в течение двух часов после центрифугирования. Если анализ не проведен в течение 8 часов, образцы должны быть плотно закупорены с последующим хранением в холодильнике при температуре 2-8 °С. Если анализ не проведен в течение 72 часов, образцы должны быть заморожены при температуре -20 °С или ниже. Избегайте повторного размораживания и замораживания образцов.

### Методика выполнения анализа

Для качественного выполнения анализа, пользователь должен внимательно ознакомиться с руководством пользователя системы, а также с инструкциями пользователя, инструкциями по подготовке и хранению образцов, инструкциями по технике безопасности и обслуживанию устройств. Также необходимо приготовить все материалы для проведения исследования.

Перед загрузкой набора реактивов АФП (ХЛИА) в аппарат, закрытые флаконы с реагентом следует осторожно перевернуть не менее 30 раз для размешивания микрочастиц, которые осели при транспортировке или хранении. Визуально осмотрите нижнюю часть флакона, чтобы убедиться в том, что микрочастицы ресуспендированы. Если микрочастицы остаются на стенках флакона, следует продолжить переворачивать флакон до полного размешивания микрочастиц. Если микрочастицы не могут быть ресуспендированы, рекомендуется не использовать данный флакон реагента. Для получения помощи свяжитесь с отделом обслуживания клиентов Mindray. Не переворачивайте открытые флаконы с реагентами.

Для проведения одного исследования требуется 15 мл образца. Данный объем не включает мертвое пространство контейнера с образцом. Для проведения других тестов потребуются дополнительный объем образца. Оператору рекомендуется ознакомиться с руководством пользователя системы и особыми требованиями к анализу для определения минимального объема образца.

### Калибровка

АФП (ХЛИА) серия CL стандартно стандартов по референсному международному стандарту альфафетопротеина ВОЗ. (NIBSC код: АФП). Калибровочная кривая набора реагентов для анализа на АФП (ХЛИА) содержится в двухмерном штрих-коде на упаковке реактивов. Она используется совместно с калибраторами для калибровки конкретной партии реактивов. При выполнении калибровки вначале

отсканируйте информацию о калибровочной кривой со штрих-кода, а затем используйте три уровня калибратора. Правильная калибровочная кривая необходима перед проведением каждого исследования АФП. Повторную калибровку рекомендуется проводить каждые 4 недели или при использовании новой партии реактивов или когда результат контроля качества находится вне допустимого диапазона. Подробные инструкции по калибровке изложены в руководстве пользователя анализатора.

### Контроль качества

Рекомендуется выполнять процедуру контроля качества не реже одного раза в сутки в случае выполнения тестов или после каждой калибровки. Частота выполнения процедур контроля качества должна устанавливаться в соответствии с индивидуальными требованиями каждой лаборатории. Для контроля качества данной системы используются Mindray Мультиконтроль опухолевых маркеров (L) и Мультиконтроль опухолевых маркеров (H). Результаты контроля качества должны находиться в пределах допустимых значений. Если показатели контроля качества выходят за рамки допустимых значений, результаты тестов считаются недостоверными. Необходимо устранить причину погрешности и повторить тестирование всей недостоверной серии измерений. Возможно, придется провести калибровку заново. Проверьте систему в соответствии с указаниями в руководстве пользователя. Если результаты контроля качества по-прежнему выходят за пределы указанного диапазона, обратитесь за помощью в службу поддержки клиентов компании Mindray.

### Вычисления

Анализатор автоматически вычисляет концентрацию аналита в каждом образце на основании заводской калибровки, считанной с штрих-кода, и 4-параметровой логарифмической кривой со значениями относительных световых единиц, полученными для трех уровней калибраторов с установленными значениями концентрации. Единицей измерения является нг/мл.

Коэффициент пересчета: нг/мл × 0,83= МЕд/мл  
МЕд/мл × 1,21 = нг/мл

### Разведение

Образцы с концентрацией АФП выше верхнего предела можно развести с помощью разбавителя образцов компании Mindray. Рекомендуемая пропорция разведения — 1:40 (разводится вручную или автоматически в анализаторе). Концентрация разведенного образца должна быть >10 нг/мл. После разведения вручную нужно умножить результат на коэффициент разведения. После автоматического разведения в анализаторе результат будет автоматически умножен системой на коэффициент разведения при расчете концентрации образца.

### Ожидаемые значения

Референсный диапазон для теста АФП серии CL был определен по результатам обследования группы из 736 здоровых людей (345 мужчин и 391 женщины).

Категория	Норма	верхний предел 95% центрального диапазона
Мужчины	345	7,2 нг/мл
Женщины	391	7,4 нг/мл
Всего	736	7,0 нг/мл

Учитывая разницу в географии, национальности,

поле и возрасте рекомендуется определять референсный диапазон для каждой лаборатории индивидуально.

#### Ограничения метода

Данный набор не предназначен для оценки риска трансмисии по 21 паре хромосом.

Верхняя пороговая величина измерения данного метода является 1210 нг/мл. Образцы с концентрацией АФП ниже, чем верхняя пороговая величина, определяются количественно, образцы с концентрацией выше порогового значения определяются как >1210 нг/мл и разведение образцов с помощью разбавителя образцов компании Mindray.

Концентрация АФП в образце, определенная наборами реактивов различных производителей, может отличаться вследствие разницы методик, калибровки и специфичности реактивов. Результаты измерений должны сопоставляться с другими данными, такими как симптомы, результаты других тестов, клиническими данными и др.

Образцы, полученные у пациентов, которые получали препараты на основе мышиных моноклональных антител могут содержать человеческие

анти-мышинные антитела (НАМА). В этих образцах могут обнаруживаться ложно увеличенные или ложно сниженные уровни, при использовании наборов реактивов содержащих мышиные моноклональные антитела. Однако, не было обнаружено видимого взаимодействия с человеческими анти-мышинными антителами (НАМА) у данного набора реактивов.

#### Эксплуатационные характеристики

##### Аналитическая чувствительность/предел обнаружения

Аналитическая чувствительность набора реактивов АФП (ХЛИА) составляет  $\leq 0,5$  нг/мл. Аналитическая чувствительность определяется как минимальная концентрация анализируемого вещества, которая может выявляться в сравнении с образцом, не содержащим анализируемого вещества. Определяется как концентрация АФП в двух стандартных отклонениях над средним значением ОСЕ в образце, не содержащем анализируемое вещество в серии из 20 измерений.

##### Диапазон измерения

Диапазон измерения определяется аналитической чувствительностью и верхним пределом заводской калибровочной кривой. Диапазон измерения для набора реактивов АФП (ХЛИА) составляет 0,5-1210 нг/мл (или верхний предел достигает 48400 нг/мл для образцов, разведенных 40 раза).

##### Специфичность

Гемоглобин до 500 мг/дл, билирубин до 20 мг/дл, триглицериды до 1500 мг/дл и общий белок до 100 мг/дл не влияют на результаты анализа АФП серия CL (ХЛИА). При добавлении этих веществ в указанных концентрациях, интерференция составляла менее 10%.

Также не было выявлено значимой интерференции при концентрации ревматоидного фактора до 1500 МЕ/мл и антинуклеарных антител в концентрации до 4000 Ед/л.

Не было выявлено значимой перекрестной реактивности при добавлении к калибратору

СО АФП человеческого хорионического гонадотропина (ЧХГ),  $\alpha$ -1 кислого гликопротеина, трансферрина,  $\alpha$ -1 антитрипсина и пролактина в количествах, приведенных в таблице ниже. Результаты показали не более 2,0 нг/мл при использовании набора реактивов АФП серии CL.

Вещества с возможной перекрестной реактивностью	Концентрация вещества
ХГЧ	1000 МЕД/мл
$\alpha$ -1 кислый гликопротеин	2 мг/мл
Трансферрин	400 мг/дл
$\alpha$ -1 антитрипсин	500 мг/дл
Пролактин	50 000 МЕД/л

Тесты на взаимодействие с лекарственными препаратами были проведены с 6 наиболее часто используемыми препаратами. Эти препараты показали уровень интерференции менее 10 % при использовании АФП серии CL при концентрациях, данных в таблице ниже.

Тестируемое соединение	Концентрация
Ацетаминофен	200 мкг/мл
Ацетилсалициловая кислота	0,50 мг/мл
Цисплатин	100 мкг/мл
Аскорбиновая кислота	1000 мкг/мл
Циклофосфамид	25 мг/дл
Винкристин	70 мг/дл

К калибратору СО Mindray АФП также добавляли другие опухолевые маркеры, такие как простатический специфический антиген (ПСА), опухолевый антиген 125 (СА125), опухолевый антиген 15-3 (СА15-3), опухолевый углеводный антиген 19-9 (СА19-9), эмбриональный опухолевый антиген (СЕА) и ферритин (FERR) в уровнях, указанных в таблице ниже. Перекрестной реактивности зарегистрировано не было, так все результаты были  $\leq 5,0$  нг/мл. Результаты приведены в таблице ниже.

##### Правильность

Опухолевый Маркер	Концентрация	Измеренный АФП (нг/мл)	Критерий Критерия
ПСА	100 нг/мл	0,00	Измеренный АФП $\leq 5,0$ нг/мл
СА125	1000 Ед/мл	0,01	
СА15-3	100 Ед/мл	0,01	
СА19-9	1000 Ед/мл	0,00	
ЭОА	1000 нг/мл	0,00	
Ферритин	1000 нг/мл	4,61	

##### Эффект прозоны

Эффекта прозоны у метода АФП серии CL не наблюдается при анализе образцов содержащих до 120,000 нг/мл АФП.

##### Правильность результатов

Для проверки правильности данной методики, применялся образец Международного Стандарта Альфа-фетопротеина ВОЗ (код NIBSC: AFP). Относительное отклонение составило менее чем  $\pm 10$  %. Результаты приведены в следующей таблице.

Образец	Измеренное значение АФП (нг/мл)	Установленное значение АФП (нг/мл)	Относительное отклонение
АФП ВОЗ	112,64	116,83	-3,59 %

##### Воспроизводимость

Коэффициент вариации теста АФП серии CL составляет  $\leq 10$  % (для одного и того же анализатора). Воспроизводимость определялась в соответствии с Протоколом Национального комитета клинических и лабораторных стандартов (NCCLS) EP5-A2<sup>9</sup>. Двухуровневый контроль качества тестировался в течение

20 дней, по две серии из двух повторов каждый день, на одной серии реактивов и единой калибровочной кривой. Значения погрешности приведены в таблице ниже.

Проба	Среднее значение АФП (нг/мл)	Внутрисерийный коэффициент вариации	Межсерийный коэффициент вариации	коэффициент вариации для одного анализатора
1	10,32	2,92 %	3,17 %	4,57 %
2	104,22	2,99 %	2,52 %	3,98 %

##### Линейность

Образец с высокой концентрацией АФП (примерно 1000 нг/мл) смешивался с образцом низкой концентрации АФП ( $< 0,4$  нг/мл) в различных пропорциях, в серии разведений. Концентрация АФП в каждом разведении определялась с использованием набора реактивов Mindray АФП серии CL. Линейность наблюдалась в диапазоне от 1,0 нг/мл до 400 нг/мл, коэффициент корреляции r составил  $\geq 0,9900$ . Данные линейности представлены в таблице ниже.

Концентрация (нг/мл)	1	2	3	4	5	6
Ожидаемый АФП	0,14	104,75	209,35	313,96	418,56	523,16
Измеренный АФП	0,14	103,14	208,47	313,14	415,70	523,16

##### Сравнение с другими методами

В рамках корреляционного исследования было проведено сравнение теста Mindray АФП, серия CL с коммерческим диагностическим набором на примерно 1287 образцах. Статистические данные регрессии Деминга представлены в таблице ниже.

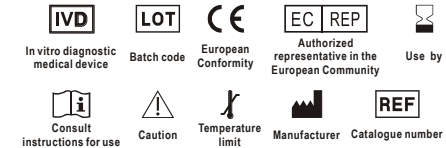
Диапазон концентрации (нг/мл)	Наклон	Отрезок	Коэффициент корреляции
0,13-1476,15	0,949	0,115	0,996

##### Предупреждения и меры предосторожности

- Только для диагностики in vitro.
- Соблюдайте правила обращения с лабораторными реактивами и правила техники безопасности.
- Результаты тестов могут различаться в соответствии с разностью применяемых методик и специфичностью антител, также результаты тестов могут различаться при использовании диагностических реактивов других производителей при использовании диагностических устройств Mindray, или использовании диагностических наборов Mindray в других диагностических устройствах.
- Не используйте наборы реагентов после окончания срока годности.
- Не смешивайте реактивы из разных партий реактивов.
- Упаковка с реактивами должна храниться в вертикальном положении, чтобы предотвратить потерю микрочастиц.
- Не рекомендуется использовать упаковку реактивов, вскрытую более 56 суток назад.
- Не гарантируется точность результатов при несоблюдении инструкции по использованию.
- Все образцы и отходы при реакциях должны считаться материалами, представляющими потенциальную биологическую опасность. Обращаться с образцами и отходами при реакциях следует в соответствии с местными нормами и руководствами.
- Паспорт безопасной эксплуатации материалов

(MSDS) предоставляются по запросу.

#### Графические символы



#### Список литературы

- Ruoslahti E, Seppala M. Studies of carcino-fetal proteins: physical and chemical properties of human a-fetoprotein. Int. J. Cancer 1971; 7: 218.
- Palomaki GE, Hill LE, Knight GJ, et al. Second Trimester Maternal Serum Alpha-Fetoprotein Levels in Pregnancies Associated with Gastroschisis and Omphalocele. Obstet Gynecol 1988; 71:906-9.
- Gitlin D, Perricelli A, Gitlin GM. Synthesis of a-fetoprotein by liver, yolk sac, and gastrointestinal tract of the human conceptus. Cancer Res 1977; 32: 979.
- Nelson LH, Bensen J, Burton BK. Outcomes in Patients with Unusually High Maternal Serum Alpha-fetoprotein Levels. Am J Obstet Gynecol 1987; 157(3):572-5.
- Taketa K. Alpha-Fetoprotein in the 1990s. In: Sell SS. Serological cancer markers. Humana Press 1992: 31-46, ISBN: 0-89603-209-4.
- 6 Silver HKB, Gold P, Feder S, Freedman SO, Shuster J. Radioimmunoassay for human alpha-fetoprotein. Proc Natl Acad Sci U.S.A. 1973; 70: 526-30.
- Perlin E, Engeler JE, Edson M, Karp D, McIntire KR, Waldmann TA. The value of serial measurement of both human chorionic gonadotropin and alpha-fetoprotein for monitoring germinal cell tumors. Cancer 1976; 37: 215-9.
- Endo Y, Kanai K, Oda T, Mitamura K, Iino S, Suzuki H. Clinical significance of a-fetoprotein in hepatitis and liver cirrhosis. Ann NY Acad Sci 1975; 259: 234.
- NCCLS. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement method; approved guideline-second edition. 2004.

© 2013 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

**Изготовитель:** Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

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

**Адрес электронной почты:** service@mindray.com

**Веб-сайт:** www.mindray.com

**Тел:** +86-755-26582888

**Факс:** +86-755-26582680

**Представитель в ЕС:** Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europe)

**Адрес:** Eiffeustraße 80, Hamburg 20537, Germany (Гамбург, Германия)

**Тел:** 0049-40-2513175

**Факс:** 0049-40-255726

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

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

**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.<sup>1</sup> 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.<sup>2,3</sup> Níveis séricos elevados de AFP, posteriormente reaparecem durante a gravidez e em conjunto com diversas doenças malignas.<sup>2,4</sup> 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.<sup>5,6</sup> 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.<sup>6,7,8</sup>

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 do 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

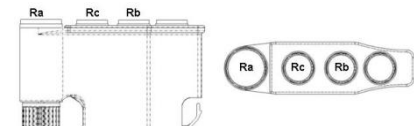
marcado liga-se a um outro local da reação da AFP para formar um complexo de sanduíche. As micropartículas são fixadas magneticamente enquanto outras substâncias não ligadas são removidas por lavagem.

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**

Analisador de Imunoensaio por Quimioluminescência Série CL Mindray  
Número do catálogo AFP211: Calibradores de AFP Mindray. 1x2,0 mL para cada calibrador C0, C1 e C2.

N.º do cat. TML311/TML312/TML313/TML314: Multicontrolado do Marcador de Tumor (L), 6x5,0 mL/12x5,0 mL/1x5,0 mL/3x5,0 mL.

N.º do cat. TMH311/TMH312/TMH313/TMH314: Multicontrolado do Marcador de Tumor (H), 6x5,0 mL/12x5,0 mL/1x5,0 mL/3x5,0 mL.

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 ML/4x75 ML.

Recipientes de Reação Mindray

**Instrumento aplicável**

Analisador 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),  $\alpha$ -1-glicoproteína ácida, transferrina,  $\alpha$ -1-antitripsina e prolactina (PRL) foram adicionados ao calibrador de AFP CO, 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

$\alpha$ -1 glicoproteína ácida	2 mg/mL
Transferrina	400 mg/dL
$\alpha$ -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 $\mu$ g/mL
Ácido acetilsalicílico	0,50 mg/mL
Cisplatina	100 $\mu$ g/mL
Cisplatina	1000 $\mu$ g/mL
Ciclofosfamida	25 mg/dL
Vincristina	70 mg/dL

O Calibrador de AFP Mindray CO 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-A2<sup>9</sup> 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 (ng/mL)	No CV em execuções	Entre-CV em execuções	No CV no dispositivo
1	10,32	2,92%	3,17 %	4,57 %
2	104,22	2,99%	2,52 %	3,98 %

#### 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

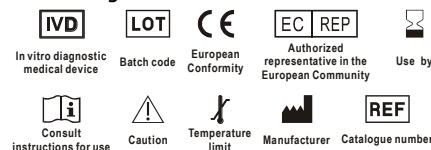
O ensaio de AFP da série CL da Mindray foi comparado com um kit de diagnóstico disponível no mercado em um estudo de correlação com cerca de 1287 espécimes. Os dados estatísticos obtidos pelo modo de computação de Deming são mostrados na tabela abaixo.

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

#### Avisos e precauções

1. Apenas para diagnóstico in vitro.
2. Siga todas as regras de manipulação de reagentes laboratoriais e tome as precauções de segurança necessárias.
3. 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.
4. Não utilize kits de reagentes vencidos.
5. Não utilizar reagentes misturados de diferentes lotes
6. Sempre mantenha a embalagem do reagente na posição vertical, para garantir que não haja micropartícula perdida antes da utilização.
7. Pacote de reagente aberto por mais de 56 dias não é recomendado para uso.
8. A confiabilidade dos resultados do ensaio não pode ser garantida se as instruções deste folheto não forem seguidas.
9. 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.
10. A Folha de Dados de Segurança de Material (MSDS) está disponível mediante solicitação.

#### Símbolos gráficos



#### Referências

1. Ruoslahti E, Seppala M. Studies of carcino-fetal proteins: physical and chemical properties of human  $\alpha$ -fetoprotein. Int. J. Cancer 1971; 7: 218.
2. Palomaki GE, Hill LE, Knight GJ, et al. Second Trimester Maternal Serum Alpha-Fetoprotein Levels in Pregnancies Associated with Gastroschisis and Omphalocele. Obstet Gynecol 1988; 71:906-9.
3. Gitlin D, Perricelli A, Gitlin GM. Synthesis of  $\alpha$ -fetoprotein by liver, yolk sac, and gastrointestinal tract of the human conceptus. Cancer Res 1972; 32: 979.
4. Nelson LH, Bensen J, Burton BK. Outcomes in Patients with Unusually High Maternal Serum Alpha-fetoprotein Levels. Am J Obstet Gynecol 1987; 157(3):572-5.
5. Taketa K. Alpha-Fetoprotein in the 1990s. Em: Sell SS. Serological cancer markers. Humana Press 1992: 31-46, ISBN: 0-89603-209-4.
6. Silver HKB, Gold P, Feder S, Freedman SO, Shuster J. Radioimmunoassay for human alpha-fetoprotein. Proc Natl Acad Sci U.S.A. 1973; 70: 526-30.
7. Perlin E, Engeler JE, Edson M, Karp D, McIntire KR, Waldmann TA. The value of serial measurement of both human chorionic gonadotropin and alpha-fetoprotein for monitoring germinal cell tumors. Cancer 1976; 37: 215-9.
8. Endo Y, Kanai K, Oda T, Mitamura K, Iino S, Suzuki H. Clinical significance of  $\alpha$ -fetoprotein in hepatitis and liver cirrhosis. Ann NY Acad Sci 1975; 259: 234.
9. NCCLS. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement method; approved guideline-second edition. 2004.

© 2013 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

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:** +86-755-26582880

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

**Endereço:** Eiffestraße 80, Hamburgo 20537, Alemanha

**Tel:** 0049-40-2513175

**Fax:** 0049-40-255726

## AFP

### Triyodotironina Total (CLIA)

#### Información para pedidos

Número de catálogo	Tamaño de envase
AFP111	2 x 50 pruebas
AFP112	2 x 100 pruebas

#### Uso previsto

El ensayo de AFP de la serie CL es un inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA) para la determinación cuantitativa de alfafetoproteína (AFP) en suero o plasma humano.

#### Resumen

La alfafetoproteína (AFP) es una alfafetoglobulina embrioespecífica y es una glicoproteína de cadena polipeptídica única con un peso molecular de aproximadamente 70 000 daltones. Es la proteína principal de la circulación fetal, así como la albúmina. La síntesis de AFP se produce principalmente en el saco vitelino, hígado y tracto gastrointestinal del feto<sup>1</sup>. Se secreta en el suero fetal y se puede detectar en la circulación fetal a los 30 días de gestación. Alcanza un pico aproximadamente a las 13 semanas de gestación y disminuye gradualmente a partir de ahí<sup>2,3</sup>. Posteriormente, vuelven a aparecer niveles elevados de AFP en suero durante el embarazo y junto con varias enfermedades malignas<sup>2,4</sup>. Se pueden detectar niveles elevados de AFP en suero en aproximadamente un 80% de pacientes con carcinoma hepático y un 50% de pacientes con tumores de células germinales. También se puede detectar en otros pacientes como los que tienen tumores gastrointestinales. La síntesis de AFP es obviamente elevada en los carcinomas hepáticos, incluso aunque el cuerpo del carcinoma sea muy pequeño. Por lo tanto, el carcinoma hepático se puede detectar lo antes posible gracias a la detección de AFP, junto con algunas otras pruebas<sup>5,6</sup>. También se ha descubierto que la AFP en suero es elevada durante el embarazo en enfermedades como, por ejemplo, hepatitis viral aguda, hepatitis activa crónica y cirrosis, pero no tan alta como en el carcinoma hepático. El nivel de AFP en suero en pacientes con cirrosis suele ser de entre 25 y 200 ng/ml, y disminuye gradualmente con un buen crecimiento de pacientes de 2 meses. El nivel elevado de AFP en suero normalmente acompaña a una nivel elevado de transaminasas. Si el nivel de AFP en suero es elevado mientras que el nivel de transaminasas es reducido, o bien el nivel de AFP en suero es superior a 500 ng/ml, es muy posible que haya un carcinoma hepático<sup>6,7,8</sup>.

No se recomienda la prueba de AFP como procedimiento de tamizaje para detectar cáncer en la población general.

#### Principio del ensayo

El ensayo de AFP de la serie CL es un ensayo de tipo sándwich con dos anticuerpos para determinar el nivel de AFP.

En el primer paso, la muestra, micropartículas paramagnéticas recubiertas de anticuerpo anti-AFP monoclonal de ratón y conjugado marcado de anticuerpos anti-AFP monoclonales de ratón y fosfatasa alcalina se añaden a un recipiente de reacción. Tras la incubación, la AFP presente en la muestra se fija a las micropartículas recubiertas de anticuerpo anti-AFP monoclonal de ratón. Mientras tanto, el conjugado marcado de anticuerpos anti-AFP monoclonales de

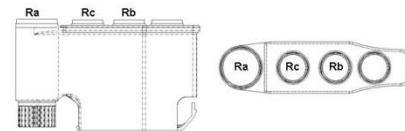
ratón y fosfatasa alcalina se fija a otro sitio de reacción de la AFP para formar un complejo de sándwich. Las micropartículas se capturan magnéticamente. Las sustancias no fijadas se eliminan mediante el lavado.

En el segundo paso, se añade la solución de sustrato al recipiente de reacción. Se cataliza mediante el conjugado de anticuerpos anti-AFP monoclonales de ratón y fosfatasa alcalina en el inmunocomplejo retenido en las micropartículas. La reacción quimioluminiscente resultante se mide como unidades de luz relativa (RLU) mediante un fotomultiplicador integrado en el sistema. La cantidad de AFP presente en la muestra es proporcional a las unidades de luz relativa (RLU) generadas durante la reacción. La concentración de AFP se puede determinar mediante una curva de calibración.

#### Componentes del reactivo

0	Micropartículas paramagnéticas recubiertas de anticuerpo anti-AFP monoclonal (ratón) en tampón de TRIS con conservador.
Rb	Conjugado de anticuerpos anti-AFP monoclonales (ratón) y fosfatasa alcalina en tampón de PBS con conservador.
Rc	Tampón de TRIS con conservador.

La posición de los componentes del reactivo se muestra en la siguiente figura (vista frontal a la izquierda y vista superior a la derecha):



#### Almacenamiento y estabilidad

El kit de reactivos de AFP (CLIA) sin abrir es estable hasta la fecha de caducidad indicada si se almacena a una temperatura de entre 2 y 8 °C.

El kit de reactivos de AFP (CLIA) se puede almacenar en el dispositivo y utilizar durante un máximo de 56 días después de la apertura a una temperatura de entre 2 y 8 °C.

#### Preparación del reactivo

Ra: Listo para su utilización  
Rb: Listo para su utilización  
Rc: Listo para su utilización

#### Materiales necesarios pero no incluidos

Analizador de inmunoensayo por quimioluminiscencia de la serie CL de Mindray  
Número de catálogo AFP211: calibradores de AFP de Mindray. 1x2,0 ml para cada calibrador C0, C1 y C2.

N.º de catálogo TML311/TML312/TML313/ TML314: multicontrol de marcadores tumorales (L) de Mindray, 6x5,0 ml/12x5,0 ml/1x5,0 ml/3x5,0 ml.

N.º de catálogo TMH311/TMH312/TMH313/ TMH314: multicontrol de marcadores tumorales (H) de Mindray, 6x5,0 ml/12x5,0 ml/1x5,0 ml/3x5,0 ml.

N.º de catálogo TML321/TML322/TML323/ TML324: multicontrol de marcadores tumorales (L) de Mindray, 1x5,0 ml/3x5,0 ml/6x5,0 ml/12x5,0 ml.

N.º de catálogo TMH321/TMH322/TMH323/ TMH324: multicontrol de marcadores tumorales (H)

de Mindray, 1x5,0 ml/3x5,0 ml/6x5,0 ml/12x5,0 ml.

N.º cat. WB411: tampón de lavado de Mindray, 1 x 10 l.

N.º cat. CS511/CS512: solución de sustrato de Mindray, 4x115 ml/4x75 ml.

Recipientes de reacción de Mindray.

#### Instrumento aplicable

Analizador de inmunoensayo por quimioluminiscencia de la serie CL de Mindray.

#### Toma y preparación de muestras

Para este ensayo se recomienda el uso de plasma o suero humano recogido en etilendiaminetetraacético (EDTA), heparina sódica y heparina de litio.

Centrifugue las muestras después de que se complete la formación del coágulo. Transfiera los sobrenadantes a tubos para el almacenamiento o pruebas en un plazo de dos horas posteriores a la centrifugación.

Las muestras se deben probar tan pronto como sea posible tras la recogida de muestras. Si las pruebas no se completan en un plazo de 8 horas, las muestras se deben cerrar de forma hermética y refrigerar a entre 2 y 8 °C. Si las pruebas se van a posponer más de 72 horas, las muestras se deben congelar a un mínimo de -20 °C.

Evite los ciclos de congelado y descongelado.

#### Procedimiento del ensayo

Para un rendimiento óptimo del ensayo, los operadores deben leer detenidamente el manual de funcionamiento del sistema para obtener suficiente información como instrucciones de funcionamiento, manejo y conservación de muestras, precauciones de seguridad y mantenimiento. Prepare también todo el material necesario para el ensayo.

Antes de cargar el kit de reactivos de AFP (CLIA) en la máquina por primera vez, se debe invertir suavemente el frasco de reactivos sin abrir al menos 30 veces para volver a suspender las micropartículas asentadas durante el envío o el almacenamiento. Realice una inspección visual del frasco para garantizar que las micropartículas se han vuelto a suspender. Si las micropartículas siguen adheridas al frasco, siga invirtiéndolo hasta que se vuelvan a suspender por completo. Si las micropartículas no se pueden volver a suspender, no se recomienda el uso del frasco de reactivos. Póngase en contacto con Atención al cliente de Mindray para obtener ayuda. No invierta un frasco de reactivos abierto.

El ensayo requiere 15 µl de muestra para una sola prueba. En este volumen no se incluye el volumen muerto del contenedor de muestras. A la hora de realizar pruebas adicionales de la misma muestra, es necesario un volumen adicional. Los operadores deben consultar el manual de funcionamiento del sistema y los requisitos específicos del ensayo para determinar el volumen mínimo de la muestra.

#### Calibración

La AFP de la serie CL (CLIA) se ha estandarizado de acuerdo con el estándar internacional de la OMS de alfafetoproteína (código NIBSC: AFP).

La información específica de la curva de calibración principal del kit de reactivos de AFP (CLIA) está almacenada en el código de barras bidimensional adherido al paquete de reactivos. Se utiliza con calibradores para la calibración del lote de reactivo específico. Al realizar la calibración, escanee primero la información de la curva de calibración principal del código de barras en el

sistema. A continuación, utilice los calibradores a tres niveles. Se requiere una curva de calibración válida antes de cualquier prueba de AFP. Se recomienda una recalibración cada 4 semanas, cuando se utilice un nuevo lote de reactivos o los controles de calidad no se encuentren dentro de los intervalos especificados. Para obtener información detallada sobre la calibración, consulte el manual de funcionamiento del sistema.

#### Control de calidad

Se recomienda que los controles de calidad se ejecuten cada 24 horas si las pruebas están en uso o después de cada calibración. La frecuencia del control de calidad se debe adaptar a los requisitos individuales de cada laboratorio. Los dos niveles recomendados de controles de calidad para este ensayo son multicontrol de marcadores tumorales (L) y multicontrol de marcadores tumoral (H) de Mindray.

Los resultados de control de calidad deben estar dentro de los intervalos aceptables. Si un control no se encuentra dentro del intervalo especificado, los resultados de la prueba asociados no son válidos y las muestras se deben probar de nuevo. Es posible que sea necesaria una recalibración. Examine el sistema de ensayo. Para ello, consulte el manual de funcionamiento del sistema. Si los resultados del control de calidad aún no se encuentran dentro del intervalo especificado, póngase en contacto con Atención al cliente de Mindray para obtener ayuda.

#### Cálculo

El analizador calcula automáticamente la concentración de analitos de cada muestra en la curva de calibración principal leída del código de barras y un ajuste de la curva logística de 4 parámetros (4PLC) con las unidades de luz relativa (RLU) generadas por calibradores de tres niveles de valores de concentración definidos. Los resultados se muestran en ng/ml.

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

#### Dilución

Las muestras con concentraciones AFP que sobrepasan el límite superior se pueden diluir con el diluyente de muestra Mindray. El diluyente recomendado es 1:40 (ya sea manualmente o de forma automática mediante el analizador). La concentración de la muestra diluida debe ser >10 ng/ml. Después de la dilución manual, multiplique el resultado por el factor de dilución. Después de que los analizadores realizan la dilución automática, el sistema automáticamente multiplica el resultado por el factor de dilución cuando calcula la concentración de la muestra.

#### Valores esperados

Un amplio estudio de una población de 736 individuos sanos (345 hombres y 391 mujeres) ha determinado el intervalo de referencia del ensayo de AFP de la serie CL.

Categoría	N	límite superior del 95% interval central
Hombre	345	7,2 ng/mL
Mujer	391	7,4 ng/mL
Total	736	7,0 ng/mL

Debido a la variación de geografía, etnia, sexo y edad, se recomienda que cada laboratorio establezca su propio intervalo de referencia.

#### Limitación

El kit NO está diseñado para la evaluación de riesgo

de la trisomía 21.

El límite superior del ensayo es de 1210 ng. Se puede determinar cuantitativamente una muestra con una concentración de CEA inferior al límite superior, mientras que una muestra con una concentración mayor que el límite superior se notificará como >1210 ng/ml o diluir las muestras con el diluyente de muestras de Mindray.

La concentración de AFP en una muestra concreta, determinada con ensayos de distintos fabricantes, puede variar debido a diferencias en los métodos de ensayo, calibración y especificidad de los reactivos. Los resultados del ensayo se deben utilizar junto con otros datos, como síntomas, resultados de otras pruebas, historia clínica, etc.

La muestra de los individuos expuestos a anticuerpos monoclonales de ratón puede contener anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA). Estas muestras pueden mostrar valores falsamente elevados o bajos con kits de ensayo que utilicen anticuerpos de ratones monoclonales. Sin embargo, no se observaron interferencias evidentes de HAMA en este ensayo.

#### Características de rendimiento

##### Sensibilidad analítica y límite de detección

El kit de reactivos de AFP (CLIA) tiene una sensibilidad analítica de  $\leq 0,5$  ng/ml. La sensibilidad analítica se define como la menor concentración de analitos que se puede diferenciar en una muestra que no contiene analitos. Se define como la concentración de AFP en dos desviaciones estándar por encima de la RLU media de 20 mediciones de una muestra sin analitos.

##### Intervalo posible

El intervalo notificable se define mediante la sensibilidad analítica y el límite superior de la curva de calibración principal. El intervalo notificable del kit de reactivos de AFP (CLIA) es de 0,5 a 1210 ng/ml (o el límite superior llega hasta los 48400 ng/ml para las muestras diluidas de 40 dimensiones).

##### Especificidad

Los niveles de hemoglobina de hasta 500 mg/dl, bilirrubina de hasta 20 mg/dl, triglicéridos de hasta 520 mg/dl y proteínas totales de hasta 10,0 g/dl no interferirán en el ensayo de AFP de la serie CL. Estas sustancias muestran menos del 10% de interferencias con la concentración indicada.

No se observaron interferencias evidentes del factor reumatoide de hasta 1500 UI/ml ni del anticuerpo anti-nuclear de hasta 4000 UI/ml.

No se observó ninguna reactividad cruzada significativa cuando se añadieron gonadotropina coriónica humana (HCG),  $\alpha$ -1-glicoproteína ácida, transferrina,  $\alpha$ -1-antitripsina y prolactina (PRL) al calibrador de AFP C0, con los niveles específicos indicados en la tabla siguiente. Los resultados no mostraron más de 2,0 ng/ml en el ensayo de AFP de la serie CL con los niveles indicados a continuación.

Substratos	Concentración de reactivos cruzados
HCG	1000 mIU/ml
$\alpha$ -1-glicoproteína ácida	2 mg/ml
Transferrina	400 mg/dl
$\alpha$ -1-antitripsina	500 mg/dl
PRL	50.000 mIU/ml

Se llevaron a cabo pruebas de sustancias de interferencia en 6 fármacos utilizados

habitualmente. Estos compuestos mostraron una interferencia inferior al 10% en el ensayo de AFP de la serie CL con los niveles indicados a continuación.

Compuesto de la prueba	de sustancia de interferencia Concentración
Acetaminofeno	200 $\mu$ g/ml
Ácido acetilsalicílico	0,50 mg/ml
Cisplatino	100 $\mu$ g/ml
Ácido ascórbico	1000 $\mu$ g/ml
Ciclofosfamida	25 mg/dl
Vincristina	70 mg/dl

El calibrador de AFP C0 de Mindray se complementó con otros marcadores tumorales, como antígeno prostático específico (PSA), antígeno de cáncer 125 (CA 125), antígeno de cáncer 15-3 (CA 15-3), antígeno de carbohidrato 19-9 (CA 19-9), antígeno carcinoembrionario (CEA) y ferritina (FERR) con los niveles específicos indicados en la tabla siguiente. No se observó reactividad cruzada evidente, dado que todos los resultados fueron  $\leq 5,0$  ng. Los resultados se indican en la siguiente tabla.

Marcador tumoral	Concentración de Concentración	AFP notificada (ng/ml)	Criterios de aceptación
PSA	100 ng/mL	0,00	AFP notificada $\leq 5,0$ ng/ml
CA 125	1000 U/mL	0,01	
CA 15-3	100 U/mL	0,01	
CA 19-9	1000 U/mL	0,00	
CEA	1000 ng/mL	0,00	
FERR	1000 ng/mL	4,61	

##### Gancho a altas dosis

Para el ensayo de AFP de la serie CL, no se observó ningún efecto gancho de alta dosis al examinar muestras con hasta aproximadamente 120 000 ng/ml de AFP.

##### Precisión

Se utilizó una muestra del estándar internacional de la OMS de alfafetoproteína (código NIBSC: AFP) con un valor rastreado y definido para verificar la precisión del ensayo. Los resultados mostraron que la desviación relativa era inferior a  $\pm 10\%$ . Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Muestra	AFP medida (ng/ml)	Valor de AFP medido (ng/ml)	Desviación relativa
AFP de la OMS	112,64	116,83	-3,59%

##### Precisión

En ensayo de AFP de la serie CL está diseñado para tener una precisión de  $\leq 10\%$  (CV dentro del dispositivo). La precisión se determinó mediante el protocolo EP5-A2 del Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico (NCCLS).<sup>9</sup> Se probaron dos niveles de controles de calidad por duplicado en dos series independientes por día, durante un total de 20 días. Se utilizó un lote de reactivos y una curva de calibración. Los datos de precisión se resumen en la siguiente tabla.

Muestra	AFP media (ng/ml)	CV de la series	CV entre las series	CV de la dispositivo
1	10,32	2,92%	3,17 %	4,57 %
2	104,22	2,99%	2,52 %	3,98 %

##### Linealidad

Se mezcló una muestra con alta concentración de

AFP (aproximadamente 400 ng/ml) con una muestra con baja concentración ( $< 1,0$  ng/ml) con distintas proporciones, generando una serie de diluciones. La AFP de cada dilución se determinó mediante el ensayo de AFP de la serie CL de Mindray. La linealidad se demostró en el intervalo de 1,0 ng/ml a 400 ng/ml, el coeficiente de correlación  $r$  es  $\geq 0,9900$ . Los datos de linealidad se resumen en la tabla siguiente.

Concentración (ng/ml)	1	2	3	4	5	6
AFP esperada	0,14	104,75	209,35	313,96	418,56	523,16
AFP medida	0,14	103,14	208,47	313,14	415,70	523,16

##### Comparación de métodos

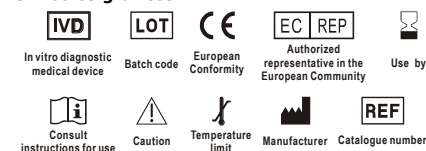
El ensayo de AFP de la serie CL de Mindray se comparó con un kit de diagnóstico disponible en el mercado en un estudio de correlación con aproximadamente 1287 muestras. Los datos estadísticos obtenidos mediante el modo informático de Deming se muestran en la siguiente tabla.

Intervalo de concentración (ng/ml)	Pendiente	Interceptación	Coefficiente de correlación
0,13-1476,15	0,949	0,115	0,996

##### Advertencias y precauciones

- Exclusivo para uso diagnóstico in vitro.
- Respete las normas de utilización de reactivos de laboratorio y tome las medidas de seguridad necesarias.
- Debido a las diferencias de metodología y especificidad de anticuerpos, los resultados de las pruebas de la misma muestra pueden diferir al utilizar kits de reactivos de distintos fabricantes en el sistema de Mindray o al utilizar kits de reactivos de Mindray en otros sistemas.
- No utilice kits de reactivos después de la fecha de caducidad.
- No utilice reactivos mezclados de distintos lotes de reactivos.
- Mantenga el kit de reactivos en posición vertical para garantizar que no se pierdan micropartículas antes del uso.
- No se recomienda el uso de un kit de reactivos que haya estado abierto durante más de 56 días.
- La fiabilidad de los resultados del ensayo no se puede garantizar si no se siguen las instrucciones del prospecto.
- Todas las muestras y residuos de reacción se deben considerar como potencialmente infecciosos. La manipulación de muestras y residuos de reactivos deben realizarse de acuerdo con las normativas y directrices.
- La hoja de datos de seguridad de los materiales (MSDS) está disponible bajo petición.

##### Símbolos gráficos



##### Referencias

- Ruoslahti E, Seppala M. Studies of carcino-fetal proteins: physical and chemical properties of human a-fetoprotein. Int. J. Cancer 1971; 7: 218.
- Palomaki GE, Hill LE, Knight GJ, et al. Second Trimester Maternal Serum Alpha-Fetoprotein Levels in Pregnancies Associated with Gastroschisis and Omphalocele. Obstet Gynecol 1988; 71:906-9.
- Gitlin D, Perricelli A, Gitlin GM. Synthesis of a-fetoprotein by liver, yolk sac, and gastrointestinal tract of the human conceptus. Cancer Res 1972; 32: 979.
- Nelson LH, Bensen J, Burton BK. Outcomes in Patients with Unusually High Maternal Serum Alpha-fetoprotein Levels. Am J Obstet Gynecol 1987; 157(3):572-5.
- Taketa K. Alpha-Fetoprotein in the 1990s. En: Sell SS. Serological cancer markers. Humana Press 1992: 31-46, ISBN: 0-89603-209-4.
- Silver HKB, Gold P, Feder S, Freedman SO, Shuster J. Radioimmunoassay for human alpha-fetoprotein. Proc Natl Acad Sci U.S.A. 1973; 70: 526-30.
- Perlin E, Engeler JE, Edson M, Karp D, McIntire KR, Waldmann TA. The value of serial measurement of both human chorionic gonadotropin and alpha-fetoprotein for monitoring germinal cell tumors. Cancer 1976; 37: 215-9.
- Endo Y, Kanai K, Oda T, Mitamura K, Iino S, Suzuki H. Clinical significance of a-fetoprotein in hepatitis and liver cirrhosis. Ann NY Acad Sci 1975; 259: 234.
- NCCLS. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement method; approved guideline-second edition. 2004.

© 2013 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co.,Ltd.

Reservados todos los derechos.

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

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

**Dirección de correo electrónico:** service@mindray.com

**Sitio web:** www.mindray.com

**Tel.:** +86-755-26582888

**Fax:** +86-755-26582680

**Representante de la CE:** Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europa)

**Dirección:** Eiffstraße 80, Hamburg 20537, Alemania

**Tel.:** 0049-40-2513175

**Fax:** 0049-40-255726

**AFP****Alfa-fetoproteina (CLIA)****Informazioni per gli ordini**

Numero di catalogo	Confezione
AFP111	Testes 2x50
AFP112	Testes 2x100

**Uso previsto**

Il kit MINDRAY AFP (CLIA) è un immunodosaggio chemiluminescente (CLIA) per la determinazione quantitativa dell'alfa-fetoproteina (AFP) nel plasma e nel siero umani.

**Riassunto e Spiegazione del Test**

L'alfa-fetoproteina (AFP) è un'alfa-globulina specifica dell'embrione, nonché una glicoproteina a catena polipeptidica singola con un peso molecolare di circa 70.000 Da. È la proteina principale nella circolazione fetale, insieme all'albumina. La sintesi di AFP si verifica principalmente nel sacco vitellino, nel fegato e nel tratto gastro-intestinale del feto.<sup>1</sup> Viene secreta nel siero fetale e può essere rilevata nella circolazione fetale fin da 30 giorni dopo l'inizio della gestazione. Raggiunge un picco a circa 13 settimane di gestazione e in seguito si riduce gradualmente.<sup>2,3</sup> Si rilevano nuovamente elevati livelli di AFP sierica successivamente durante la gravidanza e in concomitanza con diverse patologie maligne.<sup>2,4</sup> È possibile rilevare elevati livelli di AFP sierica in circa l'80% dei pazienti affetti da carcinoma epatico e in circa il 50% dei pazienti affetti da tumori delle cellule germinali. Inoltre, può essere rilevata in altri tipi di pazienti, ad esempio in pazienti affetti da tumore gastro-intestinale. La sintesi di AFP è chiaramente elevata in presenza di carcinoma epatico anche se la massa tumorale è molto piccola. Pertanto, mediante il rilevamento di AFP insieme ad altri test, è possibile rilevare la presenza di carcinoma epatico più precocemente.<sup>5,6</sup> È stato rilevato un elevato livello di AFP sierica anche durante la gravidanza e in presenza di patologie quali epatite virale acuta, epatite attiva cronica e cirrosi, ma non elevato quanto in presenza di carcinoma epatico. Il livello di AFP sierica in pazienti affetti da cirrosi è generalmente tra 25 e 200 ng/ml e si riduce gradualmente con il miglioramento della condizione dei pazienti nell'arco di 2 mesi. Il livello elevato di AFP sierica in genere è associato ad un elevato livello di transaminasi. Se il livello di AFP sierica è elevato mentre il livello di transaminasi è diminuito oppure se il livello di AFP sierica è superiore a 500 ng/ml, è molto probabile la presenza di carcinoma epatico.<sup>6,7,8</sup> Il test dell'AFP non è consigliato come procedura di screening per il rilevamento del cancro nella popolazione generica.

**Principio del dosaggio**

Il kit MINDRAY AFP (CLIA) rappresenta un dosaggio immunoenzimatico di tipo sandwich. Nella prima fase, il campione, la microparticella paramagnetica rivestita con anticorpo monoclonale anti-AFP (topo) e l'anticorpo monoclonale anti-AFP (topo) coniugato con fosfatasi alcalina vengono aggiunti in una cuvetta di reazione. Dopo l'incubazione, l'AFP presente nel campione si lega alle microparticelle rivestite con anticorpo monoclonale anti-AFP. Contemporaneamente, l'anticorpo monoclonale anti-AFP (topo) coniugato con fosfatasi alcalina si lega in un altro sito di reazione dell'AFP per formare un complesso sandwich. Le microparticelle sono catturate magneticamente, mentre le altre sostanze non

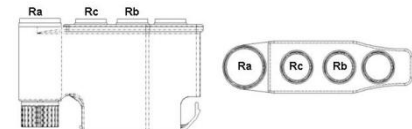
legate sono rimosse mediante lavaggio.

Nella seconda fase, nella cuvetta di reazione viene aggiunta la soluzione substrato. Questa viene catalizzata da un anticorpo monoclonale anti-AFP (topo) coniugato con fosfatasi alcalina nell'immunocomplesso trattenuto nella microparticella. La reazione chemiluminescente risultante viene misurata come unità relative di luce (RLU) da un fotomoltiplicatore integrato nel sistema. La quantità di AFP presente nel campione è proporzionale alle RLU generate durante la reazione. La concentrazione di AFP può essere determinata tramite una curva di calibrazione.

**Componenti del kit**

Ra	Microparticelle paramagnetiche rivestite con anticorpo monoclonale Anticorpo anti-AFP (topo) in tampone TRIS con conservante.
Rb	Anticorpo monoclonale anti-AFP (topo) coniugato con fosfatasi alcalina in tampone PBS con conservante.
Rc	Tampone TRIS con conservante.

La posizione di ciascun componente del reagente è illustrata nella figura di seguito (vista frontale a sinistra e vista dall'alto a destra):

**Conservazione e stabilità**

Il kit di reagenti AFP (CLIA) sigillato rimane stabile fino alla data di scadenza indicata, se conservato a 2-8 °C.

Il kit di reagenti AFP (CLIA) può essere conservato a bordo e utilizzato per un massimo di 56 giorni dopo l'apertura se conservato a 2-8 °C.

**Preparazione del reagente**

Ra: Pronto all'uso

Rb: Pronto all'uso

Rc: Pronto all'uso

**Materiali necessari ma non forniti**

Analizzatore per immunodosaggio chemiluminescente Mindray serie CL  
Mindray AFP Calibrators, N. cat. AFP211: 1x2,0 ml per ciascun calibratore C0, C1 e C2.  
Mindray Tumor Marker Multi Control (L) N. cat. TML311/TML312/TML313/TML314: 6x5,0 ml/12x5,0 ml/1x5,0 ml/3x5,0 ml.  
Mindray Tumor Marker Multi Control (H) N. cat. TMH311/TMH312/TMH313/TMH314: 6x5,0 ml/12x5,0 ml/1x5,0 ml/3x5,0 ml.  
Mindray Tumor Marker Multi Control (L) N. cat. TML321/TML322/TML323/TML324: 1x5,0 ml/3x5,0 ml/6x5,0 ml/12x5,0 ml.  
Mindray Tumor Marker Multi Control (H) N. cat. TMH321/TMH322/TMH323/TMH324: 1x5,0 ml/3x5,0 ml/6x5,0 ml/12x5,0 ml.  
Tampone di lavaggio Mindray, 1x10 L, N. cat. WB411  
Soluzione substrato Mindray, 4x115 mL N. cat. CS511.  
Soluzione substrato Mindray, 4x75 mL N. cat. CS512.

Mindray Reaction Vessels

**Strumento applicabile**

Analizzatore per immunodosaggio chemiluminescente Mindray serie CL

**Prelievo e preparazione del campione**

DISTINGUERE MODALITÀ DI PRELIEVO PER SIERO E PLASMA

(es. **Siero**)

– Raccogliere 5,0 ml di sangue venoso in una provetta. Lasciar riposare a temperatura ambiente, centrifugare e separare il siero.

– Il campione di siero è stabile per 12 ore a 2-8 °C. Per periodi prolungati sigillare e congelare a -20 °C per max 3 0 giorni.

– Evitare cicli ripetuti di congelamento e scongelamento

**Plasma**

– Raccogliere 5 mL di sangue venoso in una provetta, quindi aggiungere l'anticoagulante EDTA (50ul 0.3M EDTA per 5 ml di sangue), centrifugare e separare il plasma, e conservare a 2-8 °C.

– (Nota: come anticoagulante è consigliato EDTA ed eparina).

– Il plasma è stabile a 2-8 °C per 24 ore. Per periodi prolungati sigillare e congelare a -20 °C, per un massimo di 30 giorni.

– Evitare cicli ripetuti di congelamento e scongelamento.)

**Procedura del dosaggio**

Per garantire le prestazioni ottimali di questo dosaggio, gli operatori sono tenuti a leggere attentamente il relativo manuale operativo del sistema per ottenere informazioni sufficienti riguardanti istruzioni d'uso, trattamento e conservazione del campione, precauzioni di sicurezza e manutenzione. Preparare anche tutti i materiali richiesti per il dosaggio. Prima di caricare per la prima volta il kit MINDRAY AFP (CLIA) sull'analizzatore, è necessario capovolgere delicatamente la confezione del reagente sigillato per almeno 30 volte, in modo da risospendere le microparticelle depositatesi durante la spedizione o la conservazione. Ispezionare visivamente il flacone per assicurarsi che le particelle siano nuovamente in sospensione. Se le microparticelle rimangono attaccate al flacone, continuare a capovolgerlo finché le microparticelle non sono di nuovo completamente in sospensione. Se non è possibile risospendere le microparticelle, si consiglia di non utilizzare questo flacone di reagente. Contattare il servizio clienti Medical Systems per ricevere assistenza. Non capovolgere la confezione una volta aperta.

Questo dosaggio richiede 15 µl di campione per un singolo test. Tale volume non comprende il volume morto della provetta. Quando si eseguono ulteriori test sullo stesso campione, è necessario un volume supplementare. Gli operatori sono tenuti a fare riferimento al manuale operativo del sistema e ai requisiti specifici del dosaggio per stabilire il volume minimo di campione necessario.

**Calibrazione**

Il kit MINDRAY AFP (CLIA) è stato standardizzato in base allo standard internazionale dell'OMS per l'alfa-fetoproteina (codice NIBSC: AFP). Le informazioni specifiche relative alla curva master di calibrazione del kit AFP (CLIA) sono memorizzate nel codice a barre bidimensionale sulla confezione. Viene utilizzata insieme ai calibratori per la calibrazione del lotto di reagenti specifico. Prima di eseguire la calibrazione, effettuare una scansione delle informazioni relative alla curva master contenute nel codice a barre e successivamente utilizzare i tre livelli di calibratori. Prima di eseguire i test AFP sui campioni è richiesta una curva di

calibrazione valida. Si consiglia la ricalibrazione ogni 4 settimane, oppure quando si utilizza un nuovo lotto di reagenti o quando i controlli di qualità non rientrano nell'intervallo atteso. Per istruzioni dettagliate sulla calibrazione, consultare il manuale operativo del sistema.

**Controllo di qualità**

È consigliabile che i controlli qualità vengano effettuati almeno una volta ogni 24 ore se i test sono in uso o a seguito di ogni calibrazione. La frequenza dei controlli qualità deve essere adattata alle esigenze specifiche di ciascun laboratorio. I due livelli di controlli di qualità consigliati per questo dosaggio sono Mindray Tumor Marker MultiControl (L) e Mindray Tumor Marker MultiControl (H). È necessario che i risultati dei controlli di qualità rientrino negli intervalli accettabili. Se un controllo non rientra nel suo intervallo specificato, i risultati del test associati non sono validi e il campione deve essere nuovamente testato. Può essere richiesta la ricalibrazione. Esaminare il sistema di dosaggio facendo riferimento al manuale operativo del sistema. Se i risultati del controllo di qualità non rientrano ancora nell'intervallo specificato, contattare il Customer Service Medical Systems per ricevere assistenza.

**Calcolo dei Risultati**

L'analizzatore calcola automaticamente la concentrazione di analita di ogni campione sulla curva master di calibrazione letta dal codice a barre; la master curve è adattata utilizzando un modello logistico a 4 parametri (4PLC) con le Relative Light Unit (RLU) generate dai calibratori a tre livelli dai valori di concentrazione definiti. I risultati sono riportati in ng/ml.

Fattori di conversione: ng/ml x 0,83 = IU/ml  
IU/ml x 1,21 = ng/ml

**Diluizione**

I campioni con concentrazioni di AFP al di sopra del limite superiore possono essere diluiti con il diluente campione Mindray. La diluizione consigliata è di 1:40 (eseguita automaticamente dall'analizzatore o manualmente). La concentrazione del campione diluito deve essere >10 ng/ml. Al termine della diluizione manuale, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione. Al termine della diluizione eseguita automaticamente dall'analizzatore, il sistema moltiplica automaticamente il risultato per il fattore di diluizione durante il calcolo della concentrazione del campione.

**Valori attesi**

L'intervallo di riferimento del test Mindray AFP è stato determinato mediante uno studio su una popolazione di 736 soggetti sani (345 uomini e 391 donne).

Categoria	N	Limite superiore dell'intervallo centrale al 95% percentile
Maschi	345	7,2 ng/ml.
Femmine	391	7,4 ng/ml.
Totale	736	7,0 ng/ml

A causa della variazione in termini di area geografica, razza, sesso ed età, si consiglia vivamente a ciascun laboratorio di stabilire il proprio intervallo di riferimento.

**Limitazioni**

Questo kit NON è destinato all'uso per la valutazione del rischio di trisomia 21.

Il limite superiore di questo dosaggio è 1210 ng/ml. Un campione con una concentrazione di AFP inferiore al limite superiore può essere determinato

in maniera quantitativa, mentre un campione con una concentrazione superiore al limite massimo sarà segnalato come >1210 ng/ml oppure diluendo i campioni con il diluente campione Mindray. La concentrazione di AFP in un campione, determinata mediante dosaggi di diversi produttori, può variare a causa delle differenze a livello di metodi di dosaggio, calibrazione e specificità del reagente. I risultati del dosaggio vanno utilizzati insieme ad altri dati, quali sintomi, risultati di altri test, anamnesi clinica, ecc.

I campioni derivati da soggetti esposti ad anticorpi monoclonali di topo possono contenere anticorpi umani anti-topo (HAMA). Tali campioni possono fornire valori falsamente elevati o bassi con kit di dosaggio che utilizzano anticorpi monoclonali di topo. Tuttavia, non è stata osservata alcuna interferenza evidente di HAMA nel presente dosaggio.

#### Prestazioni del dosaggio

##### Sensibilità analitica/Limite di rilevazione

Il kit MINDRAY AFP (CLIA) presenta una sensibilità analitica  $\leq 0,5$  ng/ml. La sensibilità analitica è definita come la concentrazione minima di analita che può essere distinta da un campione che non contiene analita. È definita come la concentrazione di AFP a due deviazioni standard superiori al valore RLU medio da 20 misurazioni di un campione privo di analita.

##### Range di calibrazione

Il range di calibrazione è definito dalla sensibilità analitica e dal limite superiore della curva di calibrazione master. Il range di calibrazione del kit MINDRAY AFP (CLIA) è 0,5-1210 ng/ml (oppure il limite superiore arriva fino a 48400 ng/ml per campioni diluiti 40 volte).

##### Specificità

Il kit MINDRAY AFP (CLIA) non subirà interferenze per valori di emoglobina fino a 500 mg/dl, bilirubina fino a 20 mg/dl, trigliceridi fino a 520 mg/dl e proteina totale fino a 10,0 g/dl. Tali sostanze mostrano interferenze inferiori al 10% alla concentrazione indicata.

Non è stata osservata alcuna interferenza evidente per concentrazioni di fattore reumatoide fino a 1500 IU/ml o di anticorpo antinucleare fino a 4000 U/l. Non è stata osservata alcuna reattività crociata evidente a seguito dell'aggiunta di gonadotropina corionica umana (HCG), glicoproteina acida  $\alpha$ -1, transferrina,  $\alpha$ -1-antitripsina e prolattina (PRL) al calibratore C0 di AFP, a livelli specifici indicati nella tabella riportata di seguito. I risultati hanno mostrato valori non superiori a 2,0 ng/ml nel dosaggio di AFP, ai livelli indicati di seguito.

Substrati	Concentrazione di cross-reagenti
HCG	1000 mIU/ml
Glicoproteina acida $\alpha$ -1	2 mg/ml
Transferrina	400 mg/dl
$\alpha$ -1-antitripsina	500 mg/dl
PRL	50,000 mIU/l

Sono stati effettuati test delle sostanze interferenti su 6 farmaci di uso comune. Questi composti hanno mostrato un'interferenza inferiore al 10% nei dosaggi di AFP serie CL ai livelli indicati di seguito.

Composto del test	Sostanza di interferenza Concentrazione
Acetaminofene	200 $\mu$ g/ml
Acido acetilsalicilico	0,50 mg/ml

Cisplatino	100 $\mu$ g/ml
Acido ascorbico	1000 $\mu$ g/ml
Ciclofosfamide	25 mg/dl
Vincristina	70 mg/dl

Il calibratore C0 di AFP Mindray è stato addizionato con altri marcatori tumorali quali antigene prostatico specifico (PSA), antigene tumorale 125 (CA 125), antigene tumorale 15-3 (CA 15-3), antigene carboidratico 19-9 (CA 19-9), antigene carcinoembrionico (CEA) e ferritina (FERR), a livelli specifici indicati nella tabella riportata di seguito. Non è stata osservata alcuna reattività crociata evidente, poiché tutti i risultati sono stati  $\leq 5,0$  ng/ml. I risultati sono riportati nella tabella di seguito.

Tumore Marcatore	Cross-reagent e Concentrazione	AFP osservata (ng/ml)	Criteri di accettazione
PSA	100 ng/ml	0,00	AFP segnalata $\leq 5,0$ 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	

##### Effetto gancio a dose elevata

Per il kit MINDRAY AFP (CLIA), non sono stati osservati effetti gancio a dose elevata per campioni contenenti fino a circa 120,000 ng/ml di AFP.

##### Accuratezza

Per verificare la precisione di questo dosaggio, è stato utilizzato un campione di alfa-fetoproteina secondo lo standard internazionale dell'OMS (codice NIBSC: AFP) con un valore tracciabile e definito. I risultati hanno mostrato una deviazione relativa inferiore a  $\pm 10\%$ . I risultati sono elencati nella tabella di seguito.

Campione	AFP osservata Valore (ng/ml)	AFP attesa Valore (ng/ml)	Deviazione e relativa
AFP secondo l'OMS	112,64	116,83	-3,59%

##### Precisione

Il kit MINDRAY AFP (CLIA) è studiato per garantire una precisione  $\leq 10\%$  (CV intra-dispositivo). La precisione è stata determinata seguendo il protocollo EP5-A2 del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).<sup>9</sup> I due livelli di controlli di qualità sono stati testati in duplicato in due cicli separati al giorno, per un totale di 20 giorni, utilizzando un singolo lotto di reagenti e una singola curva di calibrazione. I dati sulla precisione sono riepilogati nella tabella di seguito.

Campione	AFP media (ng/ml)	CV intra-serie	CV inter-serie	CV inter-dispositivo
1	10,32	2,92%	3,17%	4,57%
2	104,22	2,99%	2,52%	3,98%

##### Linearità

Un campione di AFP a concentrazione elevata (circa 400 ng/ml) è stato miscelato con un campione a bassa concentrazione ( $< 1,0$  ng/ml) con rapporti diversi per generare una serie di diluizioni. L'AFP di ciascuna diluizione è stata determinata utilizzando il kit MINDRAY AFP (CLIA). La linearità è stata dimostrata nell'intervallo da 1,0 ng/ml a 400 ng/ml il coefficiente di correlazione  $r$  è  $\geq 0,9900$ . I dati sulla linearità sono riepilogati nella tabella che segue.

Concentrazione (ng/ml)	1	2	3	4	5	6
AFP attesa	0,14	104,75	209,35	313,96	418,56	523,16
AFP osservata	0,14	103,14	208,47	313,14	415,70	523,16

##### Confronto tra metodi diversi

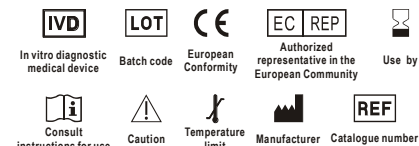
Il kit MINDRAY AFP (CLIA) è stato confrontato con un kit diagnostico disponibile in commercio durante uno studio di correlazione con circa 1287 campioni. I dati statistici ottenuti tramite il metodo di elaborazione Deming sono riportati nella tabella che segue.

Intervallo di concentrazione (ng/ml)	Pendenza	Intercepta	Coefficiente di correlazione
0,13-1476,15	0,949	0,115	0,996

##### Precauzioni e avvertenze

- Solo per uso diagnostico in vitro.
- Seguire tutte le regole riguardanti la manipolazione dei reagenti di laboratorio e adottare le necessarie precauzioni di sicurezza.
- A causa delle differenze nella metodologia e nella specificità dell'anticorpo, i risultati del test dello stesso campione possono essere differenti quando si utilizzano kit di reagenti di produttori diversi sul sistema Mindray, oppure quando si usano i kit di reagenti Mindray su altri sistemi.
- Non utilizzare i kit di reagenti dopo la data di scadenza.
- Non miscelare reagenti di lotti diversi.
- Mantenere sempre la confezione del reagente in posizione eretta per evitare la perdita di microparticelle prima dell'uso.
- Si consiglia di non utilizzare la confezione di reagente aperta oltre i 56 giorni.
- L'affidabilità dei risultati del dosaggio non può essere garantita se non si seguono le istruzioni del presente foglietto illustrativo.
- Tutti i campioni e i rifiuti della reazione sono da considerarsi come potenzialmente a rischio biologico. La manipolazione dei campioni e dei rifiuti della reazione deve avvenire in conformità alle normative e linee guida locali.
- La scheda di sicurezza dei materiali (MSDS) è disponibile su richiesta.

##### Simboli



**IVD** – Dispositivo diagnostico in vitro Direttiva 98/79/CE

**LOT** – N. di Lotto

**CE** – Marcatura CE

**EC-REP** – Rappresentante Autorizzato

**Use By** – Scadenza

**Consult Instructions for Use** – Leggere

le istruzioni per l'uso

**Caution** – Attenzione

**Temperature Limit** – Temperatura di

conservazione

**Manufacturer** – Fabbricante

**Catalogue Number** – Codice Prodotto

##### Riferimenti Bibliografici

- Ruoslahti E, Seppala M. Studies of carcino-fetal proteins: physical and chemical properties of human  $\alpha$ -fetoprotein. Int. J. Cancer 1971; 7: 218.
- Palomaki GE, Hill LE, Knight GJ, et al. Second Trimester Maternal Serum Alpha-Fetoprotein Levels in Pregnancies Associated with Gastroschisis and Omphalocele. Obstet Gynecol 1988; 71:906-9.
- Gitlin D, Perricelli A, Gitlin GM. Synthesis of  $\alpha$ -fetoprotein by liver, yolk sac, and gastrointestinal tract of the human conceptus. Cancer Res 1972; 32: 979.
- Nelson LH, Bensen J, Burton BK. Outcomes in Patients with Unusually High Maternal Serum Alpha-fetoprotein Levels. Am J Obstet Gynecol 1987; 157(3):572-5.
- Taketa K. Alpha-Fetoprotein in the 1990s. In: Sell SS. Serological cancer markers. Humana Press 1992: 31-46, ISBN: 0-89603-209-4.
- 6 Silver HKB, Gold P, Feder S, Freedman SO, Shuster J. Radioimmunoassay for human alpha-fetoprotein. Proc Natl Acad Sci U.S.A. 1973; 70: 526-30.
- Perlin E, Engeler JE, Edson M, Karp D, McIntire KR, Waldmann TA. The value of serial measurement of both human chorionic gonadotropin and alpha-fetoprotein for monitoring germinal cell tumors. Cancer 1976; 37: 215-9.
- Endo Y, Kanai K, Oda T, Mitamura K, Iino S, Suzuki H. Clinical significance of  $\alpha$ -fetoprotein in hepatitis and liver cirrhosis. Ann NY Acad Sci 1975; 259: 234.
- NCCLS. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement method; approved guideline-second edition. 2004.

© 2013 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Tutti i diritti riservati

**Produttore:** Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

**Indirizzo:** Mindray Building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park, Nanshan, ShenZhen 518057, Cina.

**Indirizzo e-mail:** service@mindray.com

**Sito Web:** www.mindray.com

**Tel.:** +86-755-26582888

**Fax:** +86-755-26582680

**Rappresentante CE:** Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europe)

**Indirizzo:** Eiffestraße 80, Amburgo 20537, Germania

**Tel.:** 0049-40-2513175

**Fax:** 0049-40-255726

**AFP****Alfa-fetoprotein (CLIA)****Sipariş Bilgileri**

Katalog No.	Ambalaj Boyutu
AFP111	2x50 test
AFP112	2x100 test

**Kullanım Amacı**

CL Serisi AFP tayini, insan serumunda veya plazmasında kantitatif alfa-fetoprotein (AFP) tayinine yönelik bir Kemilüminesans İmmünokimya Tayinidir (CLIA).

**Özet**

Alfa-fetoprotein (AFP) bir embriyoya özgü alfa-globulin ve bir tek polipeptid zincirli glikoprotein olup moleküler ağırlığı yaklaşık 70.000 Dalton'dur. Fetal dolaşımında albuminin yanı sıra ana proteindir. AFP sentezi esasen fetüsün yolk kesesinde, karaciğerinde ve gastrointestinal kanalında gerçekleşir.<sup>1</sup> Fetal seruma salgılanır ve gebelikten sonra 30 gün gibi kısa bir sürede fetal dolaşımında saptanabilir. Gebeliğin yaklaşık 13. haftasında zirveye ulaşır ve bundan sonra kademeli olarak azalır.<sup>2,3</sup> Yüksek serum AFP seviyeleri hamilelik sırasında sonradan yeniden görülür ve bazı kötü huylu hastalıklarla birlikte görülür.<sup>2,4</sup> Hepatik karsinom hastalarının yaklaşık %80'inde ve germ hücreli tümör bulunan hastaların %50'sinde yüksek serum AFP seviyeleri saptanabilir. Ayrıca, gastrointestinal tümörlü hastalar gibi diğer hastalarda da saptanabilir. Hepatik karsinomda karsinoz cisim çok küçük olsa bile AFP sentezi belirgin şekilde yüksektir. Bu yüzden, hepatik karsinom diğer bazı testler ile birlikte AFP tespitiyle olabildiğince erken saptanabilir.<sup>5,6</sup> Serum AFP seviyelerinin ayrıca hamilelik sırasında ve akut viral hepatit, kronik aktif hepatit ve siroz gibi hastalıklarda yüksek olduğu saptanmıştır, ancak hepatik karsinom kadar yüksek değildir. Siroz hastalarında serum AFP seviyesi genellikle 25 ile 200 ng/mL arasındadır ve hastanın durumunun iyiyi gitmesiyle 2 ay içinde kademeli olarak azalır. Yüksek serum AFP seviyesi genellikle eşlik eden bir yüksek seviyede transaminaz ile görülür. Transaminaz seviyesi düşüken serum AFP seviyesi yüksek ise veya serum AFP seviyesi 500 ng/mL'den fazlaysa, hepatik karsinom olması çok büyük bir olasılıktır.<sup>6,7,8</sup>

AFP testinin bir tarama prosedürü olarak genel popülasyonda kanser tespitinde kullanılması önerilmez.

**Tayin Prensihi**

CL Serisi AFP tayini, AFP seviyesini belirlemeye yönelik iki bölgeyi bir sandviç tayindir.

İlk adımda numune, fare monoklonal anti-AFP antikoruna ile kaplı paramanyetik mikro partiküller ve fare monoklonal anti-AFP antikoruna alkanin fosfataz etiketli konjüгат bir reaksiyon kabına eklenir. İnkübasyondan sonra numunede bulunan AFP fare monoklonal anti-AFP antikoruna kaplı mikro partiküllere bağlanır. Bu sırada, fare monoklonal anti-AFP antikoruna alkanin fosfataz etiketli konjüгат, AFP'nin bir başka reaksiyon bölgesine bağlanarak bir sandviç kompleks oluşturur. Mikro partiküller manyetik olarak yakalanırken, diğer bağlı olmayan maddeler yıkamayla uzaklaştırılır.

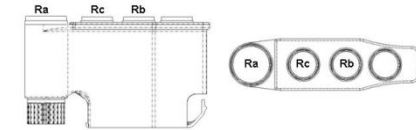
İkinci adımda, substrat çözeltisi reaksiyon kabına ilave

edilir. Mikro partikülde tutulan immünokomplekste fare monoklonal anti-AFP antikoruna -alkalin fosfataz konjüгatı ile katalize edilir. Ortaya çıkan kemilüminesans reaksiyonu, sisteme entegre edilmiş bir fotomultiplikator ile bağıl ışık birimleri (RLU) olarak ölçülür. Numune içinde bulunan AFP miktarı, reaksiyon sırasında üretilen bağıl ışık birimleri (RLU) ile orantılıdır. AFP konsantrasyonu bir kalibrasyon eğrisi aracılığıyla belirlenebilir.

**Reaktif Bileşenleri**

Ra	Paramanyetik mikro partiküller, monoklonal anti-AFP antikoruna (fare) ile kaplı; koruyucu içeren TRIS tamponu içinde.
Rb	Monoklonal anti-AFP antikoruna (fare) -alkalin fosfataz konjüгatı; koruyucu içeren PBS tamponu içinde.
Rc	Koruyucu içeren TRIS tamponu.

Her bir reaktif bileşenin pozisyonu aşağıdaki şekilde gösterilmektedir (solda önden görünüm ve sağda üstten görünüm):

**Saklama ve Stabilite**

Açılmamış AFP (CLIA) reaktif kiti, 2-8°C'de saklandığında belirtilen süre kullanma tarihine kadar stabildir.

AFP (CLIA) reaktif kiti cihaz üzerinde saklanabilir ve açıldıktan sonra 2-8°C'de en fazla 56 gün süreyle kullanılabilir.

**Reaktiflerin Hazırlanması**

Ra: Kullanıma hazır

Rb: Kullanıma hazır

Rc: Kullanıma hazır

**Gereken Fakat Temin Edilmeyen Malzemeler**

Mindray CL Serisi Kemilüminesans İmmünokimya Tayin Analizörü

Katalog No. AFP211: Mindray AFP Kalibratörleri. Her bir kalibratör C0, C1 ve C2 için 1x2,0 mL.

Kat. No. TML311/TML312/TML313/TML314: Mindray Tümör Belirteci Çoklu Analit Kontrolü (L), 6x5,0 mL/12x5,0 mL/1x5,0 mL/3x5,0 mL.

Kat. No. TMH311/TMH312/TMH313/TMH314: Mindray Tümör Belirteci Çoklu Analit Kontrolü (H), 6x5,0 mL/12x5,0 mL/1x5,0 mL/3x5,0 mL.

Kat. No. TML321/TML322/TML323/TML324: Mindray Tümör Belirteci Çoklu Analit Kontrolü (L), 1x5,0 mL/3x5,0 mL/6x5,0 mL/12x5,0 mL.

Kat. No. TMH321/TMH322/TMH323/TMH324: Mindray Tümör Belirteci Çoklu Analit Kontrolü (H), 1x5,0 mL/3x5,0 mL/6x5,0 mL/12x5,0 mL.

Kat. No. WB411: Mindray Yıkama Tamponu, 1x10 L.

Kat. No. CS511/CS512: Mindray Substrat Solusyonu, 4x115 mL/4x75 mL.

Mindray Reaksiyon Kapları

**Uygulanabilir Cihaz**

Mindray CL Serisi Kemilüminesans İmmünokimya Tayin Analizörü

**Numune Alma ve Hazırlama**

Bu tayin için serum, EDTA'lı plazma, sodyum heparin ve lityum heparinli plazma önerilir.

Pihti oluşumu tamamlandıktan sonra numuneleri santrifüje tabi tutun. Üst fazları saklamak üzere tüplere aktarın veya santrifüjden sonra iki saat içinde test edin.

Örnekler, numune alındıktan sonra en kısa sürede test edilmelidir. Test işlemi 8 saat içinde tamamlanmazsa, numunelerin kapağı sıkıca kapatılmalı ve 2-8°C'de soğutulmalıdır. Test 72 saatten uzun süreyle ertelenmezse, numuneler -20°C veya daha düşük bir sıcaklıkta dondurulmalıdır.

Tekrarlı dondurma ve çözdüme döngülerinden kaçınin.

**Tayin Prosedürü**

Bu tayinin optimal performansı için, operatörler ilgili sistem kullanım kılavuzuna dikkatle okuyarak kullanım talimatları, numunenin muhafazası ve yönetim, güvenlik tedbiri ve bakım gibi konularda yeterli bilgi edinmelidir. Tayin için gerekli tüm malzemeleri de hazırlayın.

AFP (CLIA) reaktif kitini makineye ilk kez yüklemeyen önce, açılmamış reaktif şişesi en az 30 kez nazikçe baş aşağı çevrilerek, nakliye veya saklama sırasında çöken mikro partiküller yeniden süspansiyon haline getirilmelidir. Şişeyi görsel olarak incelemek suretiyle mikro partiküllerin yeniden süspansiyon haline getirildiğinden emin olun. Mikro partiküller şişeye yapışmış halde kalıyorsa, mikro partiküller tümüyle yeniden süspansiyon haline gelinceye kadar baş aşağı çevirmeye devam edin. Mikro partiküller yeniden süspansiyon haline getirilemiyorsa, bu reaktif şişesinin kullanılmaması önerilir. Yardım için Mindray Müşteri Hizmetleri ile iletişime geçin. Açık bir reaktif şişesini baş aşağı çevirmeyin.

Bu tayinde, tek bir test için 15 µL numune gerekir. Bu hacim, numune kabının ölü hacmini içermez. Aynı numuneden ek testler yaparken ilave hacim gerekir. Operatörler, minimum numune hacmini belirlemek için sistem kullanım kılavuzuna ve tayine özgü gereksinimlere başvurmalıdır.

**Kalibrasyon**

CL Serisi AFP (CLIA), WHO Uluslararası Standardı Alfafetoprotein'e karşı standardize edilmiştir (NIBSC kodu: AFP).

AFP (CLIA) reaktif kitinin ana kalibrasyon eğrisine ilişkin spesifik bilgiler reaktif paketinde takılı iki boyutlu barkodda saklanır. Spesifik reaktif lotunun kalibrasyonu için kalibratörler ile birlikte kullanılır. Kalibrasyonu yaparken, önce barkoddaki ana kalibrasyon eğrisi bilgilerini tarayarak sisteme aktarın ve sonra kalibratörleri üç seviyede kullanın. Herhangi bir AFP testinden önce geçerli kalibrasyon eğrisi gerekir. Her 4 haftada bir veya yeni bir reaktif lotu kullanılırken ya da kalite kontrolleri belirtilen aralık dışında olduğunda yeniden kalibrasyon önerilir. Kalibrasyona ilişkin ayrıntılı talimatlar için sistem kullanım kılavuzuna başvurun.

**Kalite Kontrolü**

Testler kullanılmıdaysa 24 saatte bir ya da her kalibrasyon

işlemi sonrasında kalite kontrolleri yapılması önerilir.

Kalite kontrol sıklığı, her laboratuvarın kendi gereksinimlerine göre uyarlanmalıdır. Bu tayin için önerilen iki kalite kontrolü seviyesi Mindray Tümör Belirteci Çoklu Analit Kontrolü (L) ve Tümör Belirteci Çoklu Analit Kontrolü (H)'dir.

Kalite kontrol sonuçları kabul edilebilir aralıklar dahilinde olmalıdır. Bir kontrol belirtilen aralığın dışındaysa, ilgili test sonuçları geçersiz olur ve numunelerin yeniden test edilmesi gerekir. Yeniden kalibrasyon yapılması gerekebilir. Sistem kullanım kılavuzuna başvurarak tayin sisteminin muayene edin. Kalite kontrol sonuçları halen belirtilen aralık dışındaysa, yardım için lütfen Mindray Müşteri Hizmetleri ile iletişime geçin.

**Hesaplama**

Analizör, barkoddan okunan ana kalibrasyon eğrisi üzerinde her bir numunenin analit konsantrasyonunu ve tanımlı konsantrasyon değerlerinin üç seviye kalibratöründen oluşturulan bağıl ışık birimleri (RLU) ile 4 Parametrelı Lojistik Eğri Uydurmayı (4PLC) otomatik olarak hesaplar. Sonuçlar ng/mL birimi cinsinden gösterilir.

Dönüştürme faktörleri: ng/mL x 0,83 = IU/mL

IU/mL x 1,21 = ng/mL

**Seyreltme**

AFP konsantrasyonu üst sınırı aşan numuneler, Mindray Numune Seyreltici ile seyreltilmelidir. Önerilen seyreltme oranı 1:40'dır (analizörle otomatik veya manuel olarak). Seyreltilmiş numune konsantrasyonu > 10 ng/mL olmalıdır. Manuel seyreltme işleminden sonra sonucu seyreltme faktörüyle çarpın. Analizörlerle otomatik seyreltme yapıldıktan sonra sistem, numune konsantrasyonunu hesaplarken sonucu otomatik olarak seyreltme faktörüyle çarpır.

**Beklenen değerler**

736 sağlıklı bireyden oluşan (345 erkek ve 391 kadın) topluluk üzerinde yapılan genişletilmiş bir çalışma CL Serisi AFP tayininin referans aralığını belirlemiştir.

Kategori	N	%95 merkezi aralığının üst sınırı
Erkek	345	7,2 ng/mL
Kadın	391	7,4 ng/mL
Total	736	7,0 ng/mL

Coğrafya, ırk, cinsiyet ve yaş varyasyonu nedeniyle, her laboratuvarın kendi referans aralığını belirlemesi önerilir.

**Kısıtlama**

Bu kit, trizomi 21 risk değerlendirmesinde kullanım için DEĞİLDİR.

Bu tayinin üst limiti 1210 ng/mL'dir. Üst limitten daha düşük bir AFP konsantrasyonuna sahip numune kantitatif olarak belirlenebilirken, üst limitin üzerinde bir konsantrasyona sahip numune >1210 ng/mL olarak rapor edilir veya numunelerin Mindray Numune Seyreltici ile seyreltilmesi.

Belirli bir numunenin farklı üreticilere ait tayinlerle belirlenen AFP konsantrasyonu, tayin yöntemleri, kalibrasyon ve reaktif özgünlüğündeki farklılıklara bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Tayin sonuçları diğer verilerle (septomalar, diğer testlerin sonuçları, klinik hikaye vs.) birlikte kullanılmalıdır.

Fare monoklonal antikorlarına maruz kalan bireylerden alınan numuneler insan anti-fare antikorları (HAMA) içerebilir. Bu tür numuneler, fare monoklonal antikorlarının kullanıldığı tayin kitlerinde yanlış olarak yüksek veya baskılanmış değerler gösterebilir. Bununla birlikte, bu şekilde belirgin bir HAMA interferansı gözlenmemiştir.

### Performans Özellikleri

#### Analitik Duyarlılık/Saptama Limiti

AFP (CLIA) reaktif kitinin analitik duyarlılığı  $\leq 0,5$  ng/mL'dir. Analitik duyarlılık, hiç analit içermeyen bir numuneden ayırt edilebilen en düşük analit konsantrasyonu olarak tanımlanır. Analit içermeyen bir numunenin 20 ölçümünden elde edilen ortalama RLU değerinin üzerine çıkan iki standart sapmadaki AFP konsantrasyonu olarak tanımlanır.

#### Rapor Edilebilir Aralık

Rapor edilebilir aralık, ana kalibrasyon eğrisinin üst limiti ve analitik duyarlılık ile tanımlanır. AFP (CLIA) reaktif kitinin rapor edilebilir aralığı 0,5-1210 ng/mL'dir (veya 40 kat seyreltilen numuneler için üst sınır 48400 ng/mL'dir).

#### Özgülük

500 mg/dL'ye kadar hemoglobin, 20 mg/dL'ye kadar bilirubin, 520 mg/dL'ye kadar trigliseridler ve total protein de

10,0 g/dL'ye kadar CL Serisi AFP tayinine etki etmez. Bu maddeler, belirtilen konsantrasyonda %10'dan az interferans göstermektedir.

1500 IU/mL'ye kadar romatoid faktörden veya 4000 U/L'ye kadar antinükleer antikordan kaynaklanan belirgin bir interferans gözlenmemiştir.

AFP Kalibratörü C0'a aşağıdaki tabloda belirtilen spesifik seviyelerde insan koryonik gonadotropin (HCG),  $\alpha$ -1 asit glikoprotein, transferrin,  $\alpha$ -1 antitripsin ve prolaktin (PRL) eklendiğinde hiçbir anlamlı çapraz reaktivite gözlenmemiştir. Sonuçlar, CL Serisi AFP tayininde aşağıda belirtilen seviyelerde en fazla 2,0 ng/mL göstermiştir.

Substratlar	Çapraz Reaktan Konsantrasyonu
HCG	1000 mIU/mL
$\alpha$ -1 asit glikoprotein	2 mg/mL
Transferrin	400 mg/dL
$\alpha$ -1 antitripsin	500 mg/dL
PRL	50.000 mIU/L

Yaygın olarak kullanılan 6 farmasötik üzerinde interferans madde testleri yapılmıştır. Bu bileşikler, CL Serisi AFP tayininde, aşağıda belirtilen seviyelerde %10'dan az interferans göstermiştir.

Test Bileşiği	İnterferans Madde Konsantrasyon
Asetaminofen	200 $\mu$ g/mL
Asetilsalisilik asit	0,50 mg/mL
Sisplatin	100 $\mu$ g/mL
Askorbik asit	1000 $\mu$ g/mL
Siklofosamid	25 mg/dL

Vinkristin	70 mg/dL
------------	----------

Mindray AFP Kalibratörü C0, aşağıdaki tabloda belirtilen spesifik seviyelerde Prostat Spesifik Antijen (PSA), kanser antijeni 125 (CA125), kanser antijeni 15-3 (CA15-3), karbonhidrat antijeni 19-9 (CA19-9), karsinoembriyonik antijen (CEA) ve ferritin (FERR) gibi diğer tümör belirteçleri ile takviye edilmiştir. Tüm sonuçlar bu degerde olduğundan belirgin bir çapraz reaktivite gözlenmemiştir:  $\leq 5,0$  ng/mL. Sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmektedir.

Tümör Belirteci	Çapraz Reaktan Konsantrasyon	Rapor Edilen AFP (ng/mL)	Kabul Kriterleri (ng/mL)
PSA	100 ng/mL	0,00	Rapor Edilen AFP $\leq 5,0$ 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	

#### Yüksek Doz Hook

CL Serisi AFP tayininde, yaklaşık 120.000 ng/mL'ye kadar AFP içeren numunelere tayin uygulandığında yüksek doz kaçma etkisi (hook etkisi) gözlenmemiştir.

#### Doğruluk

Bir WHO Uluslararası Standardı numunesi Alfafetoprotein (NIBSC kodu: AFP), izlenebilir ve tanımlı degerleriyle, bu tayinin doğruluğunu teyit etmek için kullanılmıştır. Sonuçlar, bağıl sapmanın  $\pm 10$ 'dan küçük olduğunu göstermiştir. Sonuçlar aşağıdaki tabloda listelenmektedir.

Numune	Ölçülen AFP Değer (ng/mL)	Tanımlı AFP Değer (ng/mL)	Bağıl Sapma
WHO AFP	112,64	116,83	-3,59%

#### Tekrarlanabilirlik

CL Serisi AFP tayini, tekrarlanabilirliği  $\leq 10$  (cihaz içi CV) olacak şekilde tasarlanmıştır. Tekrarlanabilirlik belirlenirken Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi (NCCLS) Protokol EP5-A2'ye uyulmuştur.<sup>9</sup> İki kalite kontrolü seviyesi, tek bir reaktif lotu ve tek bir kalibrasyon eğrisi kullanılarak, toplam 20 gün boyunca gün başına iki ayrı çalışmada iki kopya halinde test edilmiştir. Tekrarlanabilirlik verileri aşağıdaki tabloda özetlenmektedir.

Numune	Ortalama AFP (ng/mL)	Gün İçinde Çalışma CV	Günler Arası-çalışma CV	Cihaz İçinde CV
1	10,32	2,92%	3,17 %	4,57 %
2	104,22	2,99%	2,52 %	3,98 %

#### Doğrusallık

Yüksek konsantrasyonda bir AFP numunesi (yaklaşık 400 ng/mL), düşük konsantrasyonda bir numune ( $< 1,0$  ng/mL) ile farklı oranlarda karıştırılarak bir dizi dilüsyon üretilmiştir. Her bir dilüsyonun AFP'sini belirlemek için Mindray CL Serisi AFP Tayini kullanılmıştır. Doğrusallık 1,0 ng/mL ile 400 ng/mL aralığında gösterilmiş olup, korelasyon katsayısı  $r \geq 0,9900$ 'dır. Doğrusallık

verileri aşağıdaki tabloda özetlenmektedir.

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

#### Yöntem Karşılaştırma

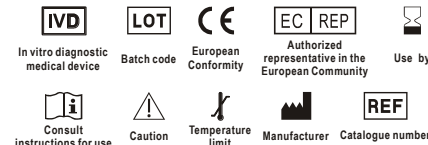
Mindray CL Serisi AFP Tayini, yaklaşık 1287 örneği içeren bir korelasyon çalışmasında piyasadan elde edilebilen bir tanı kitiyle karşılaştırılmıştır. Deming hesaplaması kullanılarak elde edilen istatistiksel veriler aşağıdaki tabloda gösterilmektedir.

Konsantrasyon Aralığı (ng/mL)	Eğim	Kesen	Korelasyon Katsayısı
0,13-1476,15	0,949	0,115	0,996

#### Uyarı ve Önlemler

- Sadece in vitro diagnostik kullanım içindir.
- Laboratuvar reaktiflerinin muamelesinde tüm kurallara uyun ve gerekli güvenlik önlemlerini alın.
- Metodoloji ve antikor özgünlüğündeki farklılıklar nedeniyle, farklı üreticilerin reaktif kiti Mindray sistemine kullanıldığında veya Mindray reaktifleri başka sistemlerde kullanıldığında, aynı numunenin test sonuçları farklı olabilir.
- Reaktif kiti, son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
- Farklı reaktif lotlarından karıştırılmış reaktifleri kullanmayın.
- Kullanım öncesi hiçbir mikro partikül kaybedilmesini sağlamak için reaktif paketini her zaman dik pozisyonda tutun.
- 56 günden fazla açık kalmış reaktif paketinin kullanılmaması önerilir.
- Bu prospektüstenki talimatlara uyulmadığı takdirde tayin sonuçlarının güvenilirliği garanti edilemez.
- Tüm numune ve reaksiyon atıkları potansiyel olarak biyolojik tehlikeli madde kabul edilmelidir. Numunelerin ve reaksiyon atıklarının muamelesi yerel düzenlemelere ve yönetmeliklere uygun olmalıdır.
- Madde Güvenliği Veri Sayfası (MSDS) istek üzerine temin edilir.

#### Grafiksel Semboller



#### Referanslar

- Ruoslahti E, Seppala M. Studies of carcino-fetal proteins: physical and chemical properties of human  $\alpha$ -fetoprotein. Int. J. Cancer 1971; 7: 218.
- Palomaki GE, Hill LE, Knight GJ, et al. Second Trimester Maternal Serum Alpha-Fetoprotein Levels in Pregnancies Associated with Gastrochisis and Omphalocele. Obstet Gynecol 1988; 71:906-9.

- Gitlin D, Perricelli A, Gitlin GM. Synthesis of  $\alpha$ -fetoprotein by liver, yolk sac, and gastrointestinal tract of the human conceptus. Cancer Res 1972; 32: 979.
- Nelson LH, Bensen J, Burton BK. Outcomes in Patients with Unusually High Maternal Serum Alpha-fetoprotein Levels. Am J Obstet Gynecol 1987; 157(3):572-5.
- Taketa K. Alpha-Fetoprotein in the 1990s. In: Sell SS. Serological cancer markers. Humana Press 1992: 31-46, ISBN: 0-89603-209-4.
- Silver HKB, Gold P, Feder S, Freedman SO, Shuster J. Radioimmunoassay for human alpha-fetoprotein. Proc Natl Acad Sci U.S.A. 1973; 70: 526-30.
- Perlin E, Engeler JE, Edson M, Karp D, McIntire KR, Waldmann TA. The value of serial measurement of both human chorionic gonadotropin and alpha-fetoprotein for monitoring germinal cell tumors. Cancer 1976; 37: 215-9.
- Endo Y, Kanai K, Oda T, Mitamura K, Iino S, Suzuki H. Clinical significance of  $\alpha$ -fetoprotein in hepatitis and liver cirrhosis. Ann NY Acad Sci 1975; 259: 234.
- NCCLS. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement method; approved guideline-second edition. 2004.

© 2013 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Tüm hakları saklıdır

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

Adres: Mindray Building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057 Çin

E-posta Adresi: service@mindray.com

Web sitesi: www.mindray.com

Tel: +86-755-26582888

Faks: +86-755-26582680

AT Temsilcisi: Shanghai International Holding Corp. GmbH (Avrupa)

Adres: Eiffestraße 80, Hamburg 20537, Almanya

Tel: 0049-40-2513175

Faks: 0049-40-255726

**AFP****Alpha-fœtoprotéine (CLIA)****Conditionnement**

N° de référence	Nombre de tests
AFP111	2x50 tests
AFP112	2x100 tests

**Utilisation**

Le dosage AFP série CL est un dosage immunologique par chimiluminescence (CLIA) pour la détermination quantitative d'alpha-fœtoprotéine (AFP) dans le sérum ou le plasma humain.

**Résumé**

L'alpha-fœtoprotéine (AFP) est une alpha-globuline spécifique de l'embryon et une glycoprotéine à chaîne polypeptidique unique avec un poids moléculaire d'environ 70 000 daltons. Il s'agit de la principale protéine dans la circulation fœtale avec l'albumine. La synthèse de l'AFP se produit principalement dans le sac vitellin, le foie et le tractus gastro-intestinal du fœtus.<sup>1</sup> Elle est sécrétée dans le sérum fœtal et peut être détectée dans la circulation fœtale dès 30 jours après la gestation. Elle atteint un pic à environ 13 semaines de gestation et diminue progressivement par la suite.<sup>2, 3</sup> L'élévation du taux d'AFP sérique réapparaît ensuite pendant la grossesse et parallèlement à plusieurs maladies malignes.<sup>2, 4</sup> Des taux d'AFP sérique élevés peuvent être détectés chez environ 80 % des patients atteints de cancer du foie et 50 % des patients atteints de tumeurs des cellules germinales. Ils peuvent également être détectés chez d'autres patients, tels que ceux qui sont atteints de tumeurs gastro-intestinales. La synthèse de l'AFP est évidemment élevée dans le cancer du foie, même si la carcinose est très faible. Ainsi, le cancer du foie peut être détecté le plus rapidement possible par la mesure de l'AFP, en association avec d'autres tests.<sup>5, 6</sup> L'AFP sérique est également élevée au cours de la grossesse, dans des maladies telles que l'hépatite virale aiguë, l'hépatite active chronique et la cirrhose, mais pas aussi élevée que dans le cancer du foie. Le taux d'AFP sérique chez les patients atteints de cirrhose est généralement compris entre 25 et 200 ng/ml, et diminue progressivement avec l'amélioration de l'état des patients en 2 mois. Le taux élevé de l'AFP sériques'accompagne généralement d'un tauxélevé de transaminases. Si le taux d'AFP sérique est élevé alors que le taux de transaminases est faible, ou si le taux d'AFP sérique est supérieur à 500 ng/ml, il est très probable que ce soit le signe d'un cancer du foie.<sup>6, 7, 8</sup> Les tests d'AFP ne sont pas recommandés comme procédure de dépistage du cancer dans la population générale.

**Principe du dosage**

Le dosage d'AFP série CL est un dosage immunoenzymatique selon la méthode sandwich permettant de déterminer la concentration d'AFP. Dans la première étape, l'échantillon, des microparticules paramagnétiques recouvertes d'anticorps de souris monoclonal anti-AFP et un conjugué d'anticorps de souris monoclonal anti-AFP -phosphatase alcaline sont ajoutés dans une cuvette réactionnelle. Après incubation, l'AFP présente dans l'échantillon se lie aux microparticules recouvertes d'anticorps monoclonal de souris anti-AFP. Pendant ce temps, le conjugué d'anticorps de souris monoclonal anti-AFP -phosphatase alcaline se lie à un autre site de réaction de l'AFP pour former un complexe en sandwich. Les microparticules sont magnétiquement capturées

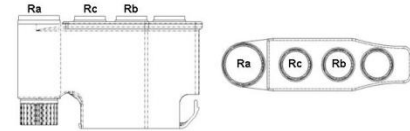
tandis que les autres substances non liées sont éliminées par lavage.

Dans la deuxième étape, la solution de substrat est ajoutée dans la cuvette réactionnelle. Elle est catalysée par le conjugué d'anticorps de souris monoclonal anti-AFP -phosphatase alcaline dans le complexe immun retenu sur la microparticule. La réaction de chimiluminescence résultante est mesurée en unités relatives de lumière (RLU) par un photomultiplicateur intégré au système. La quantité d'AFP présente dans l'échantillon est proportionnelle aux unités relatives de lumière (RLU) produites au cours de la réaction. La concentration d'AFP est déterminée au moyen d'une courbe de calibration.

**Composition des réactifs**

Ra	Microparticules paramagnétiques recouvertes d'anticorps monoclonal anti-AFP (souris) dans du tampon TRIS avec des conservateurs.
Rb	Conjugué d'anticorps monoclonal anti-AFP (souris)-phosphatase alcaline dans du tampon PBS avec des conservateurs.
Rc	Tampon TRIS avec des conservateurs.

La position de chaque réactif est représentée sur la figure ci-dessous (vue de face sur la gauche et vue de dessus à droite) :

**Stockage et stabilité**

Le kit de réactif d'AFP (CLIA) non ouvert est stable jusqu'à la date de péremption indiquée lorsqu'il est conservé à 2-8 °C.

Le kit de réactif d'AFP (CLIA) peut être conservé à bord et utilisé pendant 56 jours maximum après ouverture et conservé à 2-8 °C.

**Préparation du réactif**

Ra : Prêt à l'emploi  
Rb : Prêt à l'emploi  
Rc : Prêt à l'emploi

**Matériel nécessaire mais non fourni**

Analyseur de dosage immunologique par chimiluminescence Mindray série CL

N° de référence AFP211 : calibrateurs Mindray pour AFP. 1x2 ml pour chaque calibrateur de C0, C1 et C2.

N° de réf. TML311/TML312/TML313/TML314 : contrôle Mindray multiparamétrique de marqueur tumoral (B), 6x5 ml/12x5 ml/1x5 ml/3x5 ml.

N° de réf. TMH311/TMH312/TMH313/TMH314 : contrôle Mindray multiparamétrique de marqueur tumoral (H), 6x5 ml/12x5 ml/1x5 ml/3x5 ml.

N° de réf. TML321/TML322/TML323/TML324 : contrôle Mindray multiparamétrique de marqueur tumoral (B), 1x5 ml/3x5 ml/6x5 ml/12x5 ml.

N° de réf. TMH321/TMH322/TMH323/TMH324 : contrôle Mindray multiparamétrique de marqueur tumoral (H), 1x5 ml/3x5 ml/6x5 ml/12x5 ml.

N° de réf. WB411 : tampon de lavage Mindray, 1x10 l.

N° de réf. CS511/CS512 : solution de substrat Mindray, 4x115 ml/4x75 ml.

Cuvette réactionnelle Mindray

**Instrument dédié**

Analyseur de dosage immunologique par chimiluminescence Mindray série CL

**Prélèvement et préparation des échantillons**

Le sérum ou le plasma humain prélevé sur de l'EDTA, de l'héparine sodique et de l'héparine de lithium est recommandé pour ce dosage. Centrifugez les échantillons après la formation du caillot. Transférez les surnageants dans des tubes pour le stockage ou effectuez le test dans les deux heures après la centrifugation. Les échantillons doivent être dosés dès que possible après le prélèvement. Si le test n'est pas effectué dans les 8 heures, les échantillons doivent être hermétiquement fermés et conservés à 2-8 °C. Si le dosage doit être retardé pendant plus de 72 heures, les échantillons doivent être congelés à -20 °C ou moins. Évitez les cycles de congélation et de décongélation.

**Procédure du dosage**

Pour des performances optimales de ce dosage, les opérateurs doivent lire attentivement le manuel d'utilisation du système concerné, afin d'obtenir suffisamment d'informations telles que les instructions de fonctionnement, la préservation et la gestion des échantillons, les précautions de sécurité et la maintenance. Préparez également tout le matériel requis pour le test. Avant de charger le kit de réactif d'AFP (CLIA) sur la machine pour la première fois, le flacon de réactif non ouvert doit être retourné délicatement au moins 30 fois pour remettre en suspension les microparticules qui se sont déposées pendant le transport ou le stockage. Inspectez visuellement le flacon pour vous assurer que les microparticules ont été remises en suspension. Si les microparticules restent collées au flacon, continuez à le retourner jusqu'à ce que les microparticules soient complètement remises en suspension. Si les microparticules ne peuvent pas être remises en suspension, il est recommandé de ne pas utiliser ce flacon de réactif. Contactez le service clientèle de Mindray pour obtenir de l'aide. Ne pas retourner un flacon de réactif ouvert.

Ce dosage nécessite un volume de 15 µl d'échantillon par test. Ce volume ne comprend pas le volume mort du contenant de l'échantillon. Un volume complémentaire est nécessaire lors de l'exécution de tests supplémentaires du même échantillon. Les opérateurs doivent se référer au manuel d'utilisation du système et aux exigences spécifiques du dosage afin de déterminer le volume d'échantillon minimal.

**Calibration**

L'AFP série CL (CLIA) a été standardisée selon la norme internationale de l'OMS sur l'alpha-fœtoprotéine (code NIBSC : AFP). Les informations spécifiques de la courbe de calibration principale du kit de réactif d'AFP (CLIA) sont enregistrées dans le code à barres à deux dimensions apposé sur la cartouche de réactif. Elles sont utilisées avec les calibrateurs pour la calibration du lot de réactif spécifique. Lors de la calibration, commencez par numériser les informations de la courbe de calibration principale sur le code à barres dans le système, puis utilisez les calibrateurs à trois niveaux. Une courbe de calibration valide est nécessaire avant tout dosage d'AFP. Une nouvelle calibration est recommandée toutes les 4 semaines, ou quand un nouveau lot de réactif est utilisé ou quand les contrôles de qualité sont hors de la fourchette de tolérance. Pour des instructions détaillées sur la calibration, reportez-vous au manuel d'utilisation

du système.

**Contrôle de qualité**

Il est recommandé d'effectuer des contrôles qualité une fois toutes les 24 h si les tests sont en cours ou après chaque calibration. La fréquence des contrôles qualité doit être adaptée en fonction des exigences de chaque laboratoire. Les contrôles de qualité à deux niveaux recommandés pour ce dosage sont le contrôle multiparamétrique Mindray de marqueur tumoral (B) et le contrôle multiparamétrique Mindray de marqueur tumoral (H). Les résultats du contrôle de qualité doivent être dans les fourchettes de tolérance. Si un contrôle est hors de cette plage, les résultats de test associés ne sont pas valides et les échantillons doivent être testés à nouveau. Une recalibration peut être nécessaire. Examinez le système de dosage en vous référant au manuel d'utilisation du système. Si les résultats du contrôle qualité sont toujours hors de la plage spécifiée, veuillez contacter le service clientèle de Mindray pour obtenir de l'aide.

**Calcul**

L'analyseur calcule automatiquement la concentration en analyse de chaque échantillon sur la courbe de calibration principale lue à partir du code à barres, et un modèle mathématique à quatre paramètres (4PLC) avec les unités relatives de lumière (RLU) est généré à partir des calibrateurs à trois niveaux des valeurs de concentration déterminées. Les résultats sont présentés dans l'unité ng/ml.

Facteurs de conversion : ng/ml x 0,83 = IU/ml  
IU/ml x 1,21 = ng/ml

**Dilution**

Les échantillons présentant une concentration en AFP dépassant la limite supérieure peuvent être dilués à l'aide du diluant pour échantillons Mindray. Une dilution (automatisée par l'analyseur ou manuelle) au 1:40 est recommandée. La concentration de l'échantillon dilué doit être >10 ng/ml. Après une dilution manuelle, multipliez le résultat par le facteur de dilution. Après une dilution automatisée par les analyseurs, le système multiplie automatiquement le résultat par le facteur de dilution lors du calcul de la concentration de l'échantillon.

**Valeurs de référence**

Une étude sur une cohorte de 736 personnes en bonne santé (345 hommes et 391 femmes) a déterminé les valeurs de référence du dosage d'AFP série CL.

Catégorie	N	la limite supérieure d'intervalle central de 95%
Homme	345	7,2 ng/mL
Femme	391	7,4 ng/mL
Total	736	7,0 ng/mL

En raison de la variation de l'emplacement géographique, de l'origine ethnique, du sexe et de l'âge, il est fortement recommandé à chaque laboratoire d'établir sa propre plage de référence.

**Limitation**

Ce kit n'est pas destiné à être utilisé pour l'évaluation du risque de trisomie 21.

La limite de linéarité de ce dosage est de 1210 ng. Un échantillon avec une concentration d'AFP inférieure à cette limite est déterminé quantitativement, tandis qu'un échantillon avec une concentration plus élevée que cette limite sera signalé comme > 210 ng/ml ou diluer les échantillons à l'aide du diluant pour échantillons Mindray.

La concentration d'AFP dans un échantillon donné.

déterminée par des dosages provenant de différents fabricants, peut varier en raison de différences dans les méthodes de dosage, la calibration et la spécificité du réactif. Les résultats du dosage doivent être utilisés avec d'autres données, comme les symptômes, les résultats d'autres tests, les antécédents cliniques, etc. Un échantillon de personnes ayant été exposées à des anticorps monoclonaux de souris peut contenir des anticorps humains anti-souris (HAMA). Ces échantillons peuvent indiquer des valeurs faussement élevées ou faibles avec des kits de dosage utilisant des anticorps monoclonaux de souris. Cependant, aucune interférence significative avec des échantillons contenant des HAMA a été observée dans ce dosage.

#### Caractéristiques des performances

##### Sensibilité analytique/limite de détection

Le kit de réactif d'AFP (CLIA) a une sensibilité analytique de  $\leq 0,5$  ng/ml. La sensibilité analytique est définie comme la plus faible concentration d'analyte qui peut être distinguée à partir d'un échantillon qui ne contient pas d'analyte. Elle est définie comme la concentration d'AFP à deux écarts-types au-dessus du nombre moyen de RLU issu de 20 mesures d'un échantillon sans analyte.

##### Gamme de mesure

La gamme de mesure est définie par la sensibilité analytique et la limite supérieure de la courbe de calibration principale. La gamme de mesure du kit de réactif d'AFP (CLIA) est de 0,5 à 1 210 ng/ml (ou la limite supérieure dépasse 48400 ng/ml pour les échantillons soumis à une dilution de raison 40).

##### Spécificité

L'hémoglobine jusqu'à 500 mg/dl, la bilirubine jusqu'à 20 mg/dl, les triglycérides jusqu'à 520 mg/dl et la protéine totale jusqu'à 10 g/dl n'interfèrent pas avec le dosage d'AFP série CL. Ces substances présentent moins de 10 % d'interférences à la concentration indiquée. Aucune interférence évidente n'a été observée avec le facteur rhumatoïde jusqu'à 1500 IU/ml ou des anticorps antinucléaires jusqu'à 4000 U/l. Aucune réactivité croisée significative n'a été observée lorsque la gonadotrophine chorionique humaine (HCG), l' $\alpha$ -1 glycoprotéine acide, la transferrine, l' $\alpha$ -1-antitrypsine et la prolactine (PRL) ont été ajoutées au calibrateur CO AFP, à des niveaux spécifiques indiqués dans le tableau ci-dessous. Les résultats n'ont pas montré plus de 2 ng/ml dans le dosage d'AFP série CL aux niveaux indiqués ci-dessous.

Substrats	Concentration
HCG	1000 mIU/ml
$\alpha$ -1 glycoprotéine acide	2 mg/ml
Thiouracile	400 mg/dl
$\alpha$ -1 antitrypsine	500 mg/dl
PRL	50 000 mIU/l

Des tests supplémentaires d'interférence ont été effectués sur 6 médicaments fréquemment utilisés. Ces composés ont montré moins de 10 % d'interférence dans le dosage AFP série CL aux niveaux indiqués ci-dessous.

Composé testé	Concentration
Acétaminophène	200 µg/ml
Acide acétylsalicylique	0,50 mg/ml
Cisplatine	100 IU/ml
Acide ascorbique	1000 µg/ml
Cyclophosphamide	25 mg/dl
Vincristine	70 mg/dl

Dans le calibrateur CO AFP Mindray a été ajouté d'autres

marqueurs tumoraux, tels que l'antigène prostatique spécifique (PSA), l'antigène du cancer 125 (CA125), l'antigène du cancer 15-3 (CA15-3), l'antigène carbohydrate 19-9 (CA-19-9), l'antigène carcino-embryonnaire (CEA) et la ferritine (FERR), à des niveaux spécifiques indiqués dans le tableau ci-dessous. Aucune réactivité croisée significative n'a été observée et tous les résultats étaient  $\leq 5,0$  ng. Les résultats sont indiqués dans le tableau ci-dessous.

Marqueur	Concentration	AFP rapportée	Critères
PSA	100 ng/ml	0,00	AFP rapportée $\leq 5$ 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	

##### Effet crochet

Pour le dosage d'AFP série CL, aucun effet crochet n'a été observé lors du dosage des échantillons contenant jusqu'à environ 120 000 ng/ml d'AFP.

##### Exactitude

Un échantillon d'alpha-fœtoprotéine conforme à la norme internationale de l'OMS (code NIBSC : AFP) avec une valeur définie et traçable a été utilisé pour vérifier l'exactitude de ce dosage. Les résultats ont montré que l'écart relatif est inférieur à  $\pm 10$  %. Les résultats sont répertoriés dans le tableau suivant.

Échantillon	Valeur d'AFP mesurée (ng/ml)	Valeur d'AFP définie (ng/ml)	Écart relatif
AFP OMS	112,64	116,83	-3,59%

##### Précision

Le dosage d'AFP série CL est conçu pour avoir une précision de  $\leq 10$  % (CV dans l'appareil). La précision a été déterminée par le protocole EP5-A2 du Comité national pour les normes de laboratoire cliniques (NCCLS).<sup>9</sup> Deux niveaux de contrôle de qualité ont été testés en double dans deux séries distinctes par jour, pendant un total de 20 jours, en utilisant un seul lot de réactif et une courbe de calibration unique. Les données de précision sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Échantillon	AFP moyenne (ng/ml)	CV intra-série	CV inter-séries	CV dans l'appareil
1	10,32	2,92%	3,17 %	4,57 %
2	104,22	2,99%	2,52 %	3,98 %

##### Linéarité

Un échantillon d'AFP à haute concentration (environ 400 ng/ml) a été mélangé avec un échantillon à faible concentration ( $< 1$  ng/ml) à différents rapports, générant ainsi une série de dilutions. L'AFP de chaque dilution a été mesurée en utilisant le dosage d'AFP Mindray série CL. La linéarité a été évaluée dans la plage de 1 ng/ml à 400 ng/ml. Le coefficient de corrélation  $r$  est  $\geq 0,9900$ . Les données de linéarité sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Concentration (ng/ml)	1	2	3	4	5	6
AFP prévue	0,14	104,75	209,35	313,96	418,56	523,16
AFP mesurée	0,14	103,14	208,47	313,14	415,70	523,16

##### Méthode de comparaison

Le dosage d'AFP série CL Mindray a été comparé à un kit de diagnostic disponible dans le commerce dans une

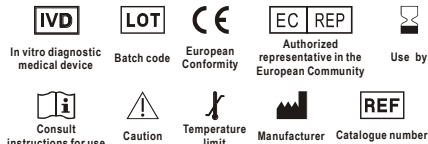
étude de corrélation avec environ 1 287 échantillons. Les données statistiques obtenues selon le mode de calcul Deming sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Plage de concentration (pg/ml)	Pente	Intersection	Coefficient de corrélation
0,13-1476,15	0,949	0,115	0,996

##### Avertissements et précautions

- Pour le diagnostic in-vitro uniquement.
- Suivez toutes les règles de manipulation de réactifs de laboratoire et prenez les précautions de sécurité nécessaires.
- En raison des différences dans les méthodes et la spécificité des anticorps, les résultats de test d'un même échantillon peuvent être différents en utilisant des kits de réactif de fabricants différents sur le système Mindray, ou en utilisant des kits de réactif Mindray sur d'autres systèmes.
- Ne pas utiliser les kits de réactif au-delà de la date de péremption.
- Ne pas utiliser de réactifs provenant de différents lots de réactif.
- Maintenez toujours la cartouche de réactif en position verticale afin de vous assurer qu'aucune microparticule n'a été perdue avant utilisation.
- Il n'est pas recommandé d'utiliser une cartouche de réactif ouverte depuis plus de 56 jours.
- La fiabilité des résultats du dosage ne peut être garantie si les instructions de cette notice ne sont pas respectées.
- Tous les échantillons et déchets de réactions doivent être considérés comme présentant potentiellement un risque biologique. La manipulation des échantillons et des déchets de réactions doit être effectuée en conformité avec l' réglementation et les directives locales.
- La fiche d'information sur la sécurité du matériel (FDSM) est disponible sur demande.

##### Symboles graphiques



##### Références

- Ruoslahti E, Seppala M. Studies of carcino-fetal proteins: physical and chemical properties of human  $\alpha$ -fetoprotein. Int. J. Cancer 1971; 7: 218.
- Palomaki GE, Hill LE, Knight GJ, et al. Second Trimester Maternal Serum Alpha-Fetoprotein Levels in Pregnancies Associated with Gastrochisis and Omphalocele. Obstet Gynecol 1988; 71:906-9.
- Gitlin D, Perricelli A, Gitlin GM. Synthesis of  $\alpha$ -fetoprotein by liver, yolk sac, and gastrointestinal tract of the human conceptus. Cancer Res 1972; 32: 979.
- Nelson LH, Bensen J, Burton BK. Outcomes in Patients with Unusually High Maternal Serum Alpha-fetoprotein Levels. Am J Obstet Gynecol 1987; 157(3):572-5.
- Taketa K. Alpha-Fetoprotein in the 1990s. In: Sell SS. Serological cancer markers. Humana Press 1992: 31-46. ISBN: 0-89603-209-4.
- Silver HKB, Gold P, Feder S, Freedman SO, Shuster J. Radioimmunoassay for human

$\alpha$ -fetoprotein. Proc Natl Acad Sci U.S.A. 1973; 70: 526-30.

- Perlin E, Engeler JE, Edson M, Karp D, McIntire KR, Waldmann TA. The value of serial measurement of both human chorionic gonadotropin and alpha-fetoprotein for monitoring germinal cell tumors. Cancer 1976; 37: 215-9.
- Endo Y, Kanai K, Oda T, Mitamura K, Iino S, Suzuki H. Clinical significance of  $\alpha$ -fetoprotein in hepatitis and liver cirrhosis. Ann NY Acad Sci 1975; 259: 234.
- NCCLS. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement method; approved guideline-second edition. 2004.

© 2013 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co. Ltd.

Tous droits réservés

**Fabricant :** Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co. Ltd.

**Adresse :** Mindray building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057 Chine

**Adresse électronique :** service@mindray.com

**Site Web :** www.mindray.com

**Tél. :** +86-755-26582888

**Fax :** +86-755-26582680

**Représentant EC :** Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europe)

**Adresse :** Eiffestraße 80, Hambourg 20537, Allemagne

**Tél. :** 0049-40-2513175

**Fax :** 0049-40-255726