

Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF II

cobas®

REF		Σ	SYSTEM
08821941190	08821941500	100	cobas e 402 cobas e 801

Português

Informações do sistema

Nome abreviado	ACN (número de código de aplicação)
AB42 2	10097

Nota

O valor medido de β -amilóide (1-42) numa dada amostra, determinado através de ensaios de diferentes fabricantes, pode variar devido a diferenças a nível dos métodos de ensaio e do reagente. Os valores determinados em amostras através de outros métodos de ensaio e em diferentes plataformas **cobas e** não podem ser utilizados em substituição destes.

Note que, devido às propriedades aderentes da proteína β -amilóide, o cut-off de ensaio Elecsys fornecido neste documento só é válido se o procedimento de manuseamento pré-analítico abaixo descrito (consulte a secção "Colheita e preparação das amostras") for estritamente seguido.

Todos os dados de desempenho foram gerados utilizando material de líquido cefalorraquidiano (LCR) congelado. Um resultado de β -amilóide (1-42) positivo no LCR não estabelece um diagnóstico de doença de Alzheimer (DA) e deve ser sempre interpretado em conjunto com informações clínicas.

Utilização prevista

O Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF II é um imunoensaio de diagnóstico in vitro que se destina a ser utilizado para a determinação quantitativa da concentração de proteína β -amilóide (1-42) no líquido cefalorraquidiano (LCR) humano.

1. O ensaio Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF II destina-se a ser utilizado em indivíduos adultos com défice cognitivo sujeitos a avaliação de doença de Alzheimer (DA) e outras causas de défice cognitivo. Os resultados acima do cut-off são consistentes com um exame PET (tomografia por emissão de positrões) de amilóide negativo. Os exames PET de β -amilóide negativos indicam raras ou nenhuma placas neuríticas e não são consistentes com um diagnóstico neuropatológico de DA no momento da aquisição imagiológica; um resultado de exame negativo reduz a probabilidade de o défice cognitivo de um doente se dever a DA.
2. O ensaio Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF II destina-se a ser utilizado em conjunto com o ensaio Elecsys Phospho-Tau (181P) CSF ou Elecsys Total-Tau CSF, como um rácio em indivíduos adultos com défice cognitivo sujeitos a avaliação de DA e outras causas de défice cognitivo onde um resultado de LCR positivo e negativo é consistente com um resultado de exame PET (tomografia por emissão de positrões) de amilóide positivo e negativo, respectivamente.
3. O ensaio Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF II destina-se a ser utilizado isoladamente ou em conjunto com o ensaio Elecsys Phospho-Tau (181P) CSF ou Elecsys Total-Tau CSF, como um rácio em indivíduos adultos com défice cognitivo ligeiro (DCL) como auxiliar na identificação de indivíduos em menor vs. maior risco de declínio cognitivo, conforme definido pela alteração numa pontuação clínica durante um período de 2 anos.

Limitações de utilização

- O ensaio Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF II constitui um adjuvante de outras avaliações diagnósticas clínicas.
- Um resultado de ensaio Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF II positivo e/ou um resultado do rácio Elecsys Phospho-Tau (181P) CSF ou Elecsys Total-Tau CSF/Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF II positivo não estabelece um diagnóstico de DA ou outra perturbação cognitiva.

- A segurança e eficácia do ensaio Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF II não foram estabelecidas para monitorização das respostas às terapêuticas.

O imunoensaio de electroquimioluminescência (electrochemiluminescence immunoassay ou "ECLIA") foi concebido para ser utilizado nos analisadores de imunoensaio **cobas e**.

Sumário

O ensaio Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF II foi concebido para detectar péptido β -amilóide (1-42), uma proteína de 4 kDa pequena, de cerca de 40 aminoácidos, que se forma após a clivagem proteolítica de uma proteína transmembranar conhecida como proteína precursora amilóide (PPA). A clivagem da PPA ocorre através de 2 eventos: clivagem por β -secretase no domínio extracelular e clivagem por γ -secretase na região transmembranar. Devido à sua natureza hidrofóbica, o péptido β -amilóide (1-42) tem a propriedade de formar agregados e oligómeros. Os oligómeros de ordem mais elevada formam fibrilas que se acumulam nas placas β -amilóides.¹ Uma relevância clínica da deposição do péptido β -amilóide (1-42) no cérebro como 1 das 2 características da DA, além dos emaranhados neurofibrilares, pode ser detectada através de diversos métodos: (a) coloração histopatológica de depósitos de β -amilóide (1-42) em tecido cerebral post mortem; (b) utilização de rádio-marcadores que se ligam aos depósitos de β -amilóide no cérebro e depois podem ser detectados in vivo através de exame PET; (c) medição do nível de β -amilóide 42 no LCR, visto considerar-se que títulos mais baixos no LCR reflectem acumulação desta molécula no cérebro.^{2,3}

As alterações patológicas do metabolismo β -amilóide são as alterações mais precoces durante o desenvolvimento da DA que se conhecem até agora e que podem ser utilizadas em termos diagnósticos. São reflectidas pela redução nas concentrações de LCR de β -amilóide (1-42), bem como pelo aumento da captação cerebral dos marcadores específicos no exame PET de β -amilóide.⁴ Os critérios de diagnóstico clínico actuais de DA requerem que um doente tenha demência antes de se poder fazer um diagnóstico de DA, e baseiam-se grandemente na exclusão de outras perturbações. Não está disponível nenhum método de identificação de DA prodromal em doentes com DCL, uma vez que esses indivíduos apenas apresentam ligeiras perturbações na memória episódica.⁵

Numerosos estudos mostram que enquanto os níveis de β -amilóide (1-42) no LCR diminuem para cerca de metade do nível dos controlos, os níveis de tTau no LCR e pTau 181 no LCR aumentam cerca de 2-3 vezes nos doentes com DA ligeira-moderada em comparação com os controlos de idade correspondente.^{6,7} A tTau no LCR demonstrou reflectir a intensidade da lesão e degeneração neuronal e axonal. A tTau no LCR elevada está também associada a uma progressão mais rápida de DCL para DA.⁸ Os níveis de pTau 181 no LCR estão também associados a uma progressão mais rápida de DCL para DA com declínio cognitivo mais rápido nos doentes com DA⁹, assim como nos casos de demência DA muito ligeira.

Os biomarcadores de pTau e tTau no LCR atingem o seu maior poder quando utilizado em conjunto com a β -amilóide (1-42) no LCR, para detecção da probabilidade de progressão dos indivíduos com DCL para DA.¹⁰

A utilização de biomarcadores da DA foi incluída nos novos critérios de diagnóstico de investigação consensuais de DA, défice cognitivo ligeiro (DCL) e DA pré-clínica, propostos pelo National Institute on Aging (NIA) e pela Associação de Alzheimer. Estes novos critérios levam em consideração o facto de a demência na DA fazer parte de um contínuo de fenómenos clínicos e biológicos.^{11,12} Os novos critérios do IWG-2 (International Working Group 2) recomendam a utilização do biomarcador LCR ou da imagiologia PET para a avaliação dos doentes com DA.¹³ Na Europa, o CHMP (Committee for Medicinal Products for Human Use) publicou uma série de opiniões positivas sobre a utilização de biomarcadores no contexto da DA, para o enriquecimento de ensaios clínicos na pré-demência e DA ligeira a moderada.^{14,15}

Princípio do teste

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

- 1.ª incubação: 30 μ L de amostra, um anticorpo monoclonal biotinilado específico anti- β -amilóide (1-42) (21F12) e um anticorpo monoclonal específico anti- β -amilóide (1-42) (3D6) marcado com complexo de ruténio^a reagem entre si e formam um complexo sandwich.

Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF II

cobas®

- 2.ª incubação: Após a adição das micropartículas revestidas de estreptavidina, o complexo formado liga-se à fase sólida pela interacção da biotina e da estreptavidina.
- A mistura de reacção é aspirada para a célula de leitura, onde as micropartículas são fixadas magneticamente à superfície do eléctrodo. Os elementos não ligados são então removidos com ProCell II M. A aplicação de uma corrente eléctrica ao eléctrodo induz depois uma emissão quimioluminescente que é medida por um fotomultiplicador.
- Os resultados são determinados com base numa curva de calibração gerada especificamente pelo analisador, através de uma calibração de 2 pontos, e numa curva principal fornecida através do **cobas link**.

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

Reagentes - soluções de trabalho

O suporte de reagentes **cobas e** pack está rotulado como AB42 2.

- M Micropartículas revestidas com estreptavidina, 1 frasco, 6.1 mL:
Micropartículas revestidas com estreptavidina 0.72 mg/mL;
conservante.
- R1 Anticorpo anti- β -amilóide (1-42)-biotina, 1 frasco, 6.8 mL:
Anticorpo monoclonal biotinilado anti- β -amilóide (1-42) 21F12
(ratinho) 2.0 mg/L; tampão fosfato > 100 mmol/L, pH 7.2;
conservante.
- R2 Anticorpo anti- β -amilóide (1-42)-Ru(bpy)₃²⁺, 1 frasco, 6.8 mL:
Anticorpo monoclonal anti- β -amilóide 3D6 (ratinho) marcado com
complexo de ruténio 1.75 mg/L; tampão fosfato > 100 mmol/L,
pH 7.2; conservante.

Precauções e avisos

Para utilização em diagnóstico in vitro restrita a profissionais de saúde. Respeite as precauções normais de manuseamento de reagentes laboratoriais.

Resíduos infecciosos ou microbianos:

Aviso: Manuseie os resíduos como material de potencial risco biológico. Elimine os resíduos de acordo com as instruções e os procedimentos laboratoriais aceites.

Riscos ambientais:

Aplique todos os regulamentos de eliminação locais para determinar os procedimentos de eliminação segura.

Ficha de dados de segurança fornecida a pedido, para uso profissional.

Este dispositivo contém componentes que estão classificados da seguinte forma, de acordo com o Regulamento (CE) N.º 1272/2008:



Aviso

H317 Pode provocar uma reacção alérgica cutânea.

Prevenção:

P261 Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis.

P272 A roupa de trabalho contaminada não pode sair do local de trabalho.

P280 Usar luvas de protecção.

Resposta:

P333 + P313 Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.

P362 + P364 Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.

Eliminação:

P501

Elimine o conteúdo/recipiente recorrendo a uma unidade de tratamento de resíduos apropriada.

A rotulagem de segurança do produto cumpre as directivas EU GHS.

Telefone de contacto: todos os países: +49-621-7590

Evite a formação de espuma em todos os reagentes e tipos de amostras (amostras de pacientes, calibradores e controlos).

Preparação dos reagentes

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

Toda a informação necessária para o correcto funcionamento está disponível através do **cobas link**.

Armazenamento e estabilidade

Armazenar a 2-8 °C.

Não congelar.

Armazene o suporte de reagentes **cobas e** pack **na vertical** para assegurar a total disponibilidade das micropartículas durante a mistura automática, antes da utilização.

Estabilidade:	
em frasco fechado a 2-8 °C	até ao fim do prazo de validade indicado
nos analisadores	16 semanas

Colheita e preparação das amostras

Siga as etapas abaixo enumeradas para a colheita e medição de amostras de LCR.

As notas técnicas constituem parte essencial das instruções e devem ser lidas atentamente antes de se concluir qualquer etapa.

Passos	Notas técnicas
1. Efectuar punção lombar (PL) utilizando o método gota a gota por gravidade.	Evite a utilização de seringas ou tubos. Realize a PL antes do meio-dia.
2. Não utilizar os primeiros 2 mL de LCR na medição de Biomarcadores de DA Elecsys.	Nenhuma
3. Em seguida colher pelo menos 2.5 mL de LCR directamente para o tubo de LCR [REF] 63.614.625 (Sarstedt) para medições de biomarcadores de DA (Nota: 2.5 mL de volume de enchimento corresponde a encher até à marca existente no tubo).	Cada amostra deve ser visualmente inspeccionada em termos de hemólise. Não utilizar amostras de LCR com aspecto avermelhado na medição dos biomarcadores de DA Elecsys. Em vez disso, colher uma amostra adicional de LCR transparente (não hemolítico) num novo tubo de LCR. A colheita de LCR para outros fins pode ser feita em seguida, se necessário.

Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF II



Passos	Notas técnicas
4. Não processar a amostra de LCR antes do transporte para o local de medição (i.e. não homogeneizar/inverter, não transferir de tubo, não fazer aliquotas, não congelar e normalmente não centrifugar), até à medição.	Recomenda-se vivamente que a amostra seja mantida a 2-8 °C durante o transporte e armazenamento, até ao momento da medição. As amostras podem ser armazenadas a 2-8 °C durante um máximo 14 dias. Se o transporte e armazenamento a 2-8 °C não for exequível, as amostras podem ser transportadas/armazenadas à temperatura ambiente (20-25 °C). Nesse caso, a medição deve ser executada no prazo de 5 dias após a colheita da amostra.
5. Medição nos sistemas cobas e : Colocar o tubo de amostra de LCR directamente no analisador para medição. Para evitar a evaporação, abrir o tubo de amostra imediatamente antes da medição.	-

Estabilidade das amostras de LCR: 14 dias a 2-8 °C e 5 dias a 20-25 °C.

Não utilize amostras de LCR hemolisadas que apresentem uma cor visivelmente vermelha.

As amostras que contêm precipitado têm de ser centrifugadas antes da realização do ensaio.

Não utilize amostras e controlos estabilizados com azida.

Certifique-se de que as amostras e calibradores estão a 20-25 °C antes da medição.

Devido a possíveis efeitos de evaporação, as amostras e os calibradores colocados no analisador deverão ser analisados/medidos no prazo de 2 horas.

Mantenha os frascos das amostras sempre fechados quando não estiverem a ser utilizados.

Materiais fornecidos

Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho" para mais informações sobre os reagentes.

Materiais necessários (mas não fornecidos)

- [REF] 08821976190, CalSet β -Amyloid (1-42) II, para 4 x 1.0 mL
- [REF] 08821968190, PreciControl β -Amyloid (1-42) II, para 6 x 1.0 mL
- [REF] 63.614.625, 2.5 mL Low bind False bottom tube, Sarstedt (para colheita de LCR)
- Equipamento normal de laboratório
- Analisador **cobas e**

Materiais adicionais para os analisadores **cobas e 402** e **cobas e 801**:

- [REF] 06908799190, ProCell II M, 2 x 2 L de solução de sistema
- [REF] 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L de solução de limpeza para a célula de leitura
- [REF] 07485409001, Reservoir Cup, 8 cuvetes para fornecer ProCell II M e CleanCell M
- [REF] 06908853190, PreClean II M, 2 x 2 L de solução de lavagem
- [REF] 05694302001, Assay Tip/Assay Cup tray, 6 tabuleiros x 6 suportes de tabuleiros x 105 pontas de ensaio e 105 cuvetes de ensaio, 3 sacos de lixo
- [REF] 07485425001, Liquid Flow Cleaning Cup, 2 cuvetes de adaptador para fornecer ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean para a Liquid Flow Cleaning Detection Unit
- [REF] 07485433001, PreWash Liquid Flow Cleaning Cup, 1 cubete de adaptador para fornecer ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean para a Liquid Flow Cleaning PreWash Unit

- [REF] 11298500316, ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean, 5 x 100 mL de solução de limpeza do sistema

Ensaio

Para assegurar o óptimo desempenho do ensaio, siga as instruções fornecidas neste documento para o analisador utilizado. Consulte o manual do operador adequado, para obter instruções do ensaio específicas do analisador.

A ressuspensão das micropartículas é efectuada automaticamente antes de usar.

Coloque o suporte de reagentes **cobas e** pack (armazenado a 2-8 °C) refrigerado no gestor de reagentes. Evite a formação de espuma. O sistema regula automaticamente a temperatura dos reagentes e a abertura/fecho do suporte de reagentes **cobas e** pack.

Calibração

Rastreabilidade: Este método foi padronizado contra os 3 materiais de referência certificados (CRMs), ERM®-DA480/IFCC, ERM®-DA481/IFCC e ERM®-DA482/IFCC.

A curva principal previamente definida é adaptada ao analisador utilizando o calibrador CalSet relevante.

Frequência das calibrações: A calibração tem de ser realizada uma vez por cada lote de reagentes utilizando reagente recém-colocado (i.e., dentro de um máximo de 24 horas após o suporte de reagentes **cobas e** pack ter sido registado no analisador).

O intervalo de calibração pode ser excedido com base na verificação aceitável da calibração pelo laboratório.

Recomendam-se as seguintes recalibrações:

- após 12 semanas quando se utiliza o mesmo lote de reagentes
- após 28 dias quando se utiliza o mesmo suporte de reagentes **cobas e** pack no analisador
- conforme necessário: por ex., em ensaios de controlo da qualidade fora dos limites definidos

Controlo da qualidade

Para o controlo da qualidade, utilize PreciControl β -Amyloid (1-42) II.

Os controlos dos diversos intervalos de concentração devem ser executados individualmente pelo menos uma vez em cada 24 horas quando o teste estiver a ser utilizado, uma vez por suporte de reagentes **cobas e** pack e após cada calibração.

É necessário ter um cuidado especial para garantir que a exactidão e a precisão do teste se mantêm dentro dos limites aceitáveis. Além de cumprir os intervalos teóricos do PreciControl β -Amyloid (1-42) II indicados, o utilizador tem de garantir que o desvio sistemático relativamente ao valor teórico atribuído se situa dentro de $\pm 10\%$, o CV de precisão intermédia corresponde a $\leq 10\%$ e o erro total máximo se situa dentro de $\pm 26.5\%$ ($ET = \text{Idesvio} + 1.65 \cdot CV$). Recomenda-se a utilização de software de controlo da qualidade.

Para os utilizadores não familiarizados com a configuração e aplicação de CQ especiais, estão disponíveis informações detalhadas na brochura "**Guidance: Statistical Quality Control Rule Implementation**" em língua inglesa, disponibilizada em dialog.roche.com. Esta brochura explica, por exemplo, como verificar se o erro total máximo se situa dentro do intervalo permitido com base nos resultados de CQ locais, além de outras informações úteis.

Os intervalos e limites de controlo deverão ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos limites definidos. Cada laboratório deve estabelecer as medidas correctivas a tomar no caso de os valores se situarem fora dos limites definidos.

Cumpra os regulamentos governamentais aplicáveis e as directrizes locais de controlo da qualidade.

Se necessário, repita a medição das amostras envolvidas.

Cálculo

O analisador calcula automaticamente a concentração de analito de cada amostra em pg/mL.

Limitações – interferências

Foi testado o efeito das seguintes substâncias endógenas e compostos farmacêuticos no desempenho do ensaio. Foram testadas interferências

Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF II



até às concentrações incluídas na lista, não tendo sido observado qualquer impacto nos resultados.

Substâncias endógenas

Composto	Concentração testada
Bilirrubina	$\leq 0.51 \mu\text{mol/L}$ ou $\leq 0.03 \text{ mg/dL}$
Hemoglobina	$\leq 0.0031 \text{ mmol/L}$ ou $\leq 5 \text{ mg/dL}$
Intralipid	$\leq 10 \text{ mg/dL}$
Biotina	$\leq 4912 \text{ nmol/L}$ ou $\leq 1200 \text{ ng/mL}$
Factores reumatóides	$\leq 4 \text{ UI/mL}$
IgG	$\leq 0.02 \text{ g/dL}$
IgA	$\leq 0.002 \text{ g/dL}$
IgM	$\leq 0.0005 \text{ g/dL}$
Albumina	$\leq 0.05 \text{ g/dL}$

Critério: Recuperação dentro de $\pm 48 \text{ pg/mL}$ do valor inicial $\leq 480 \text{ pg/mL}$ e dentro de $\pm 10 \%$ do valor inicial $> 480 \text{ pg/mL}$.

Não foi observado qualquer efeito "high-dose hook" em concentrações de β -amilóide (1-42) até 6000 pg/mL .

Substâncias farmacêuticas

Foram efectuados testes in vitro com 17 fármacos frequentemente utilizados. Não foi encontrada nenhuma interferência com o ensaio.

Fármacos utilizados com mais frequência

Fármaco	Concentração testada mg/L
Paracetamol	156
Acetilcisteína	150
Ácido acetilsalicílico	30
Ampicilina-Na	75
Ácido ascórbico	52.5
Cefoxitina	750
Ciclosporina	1.8
Doxiciclina	18
Heparina	1100 UI/L
Ibuprofeno	219
Itraconazol	0.06
Levodopa	7.5
Metildopa	22.5
Metronidazol	123
Fenilbutazona	107
Rifampicina	48
Teofilina	60

Foram também testados os seguintes 15 fármacos especiais. Não foi encontrada nenhuma interferência com o ensaio.

Fármacos especiais

Fármaco	Concentração testada mg/L
Atorvastatina	0.75
Clopidogrel	0.3
Digoxina	0.039
Donepezilo	30
Escitalopram	0.192
Esomeprazol	6.9

Fármaco	Concentração testada mg/L
Furosemida	15.9
Galantamina	250
Hidroclorotiazida	1.13
Lisinopril	0.246
Memantina	0.117
Metformina	12
Metoprolol	1.5
Rivastigmina	45
Sinvastatina	1.68

Critério: Recuperação dentro de $\pm 48 \text{ pg/mL}$ do valor inicial $\leq 480 \text{ pg/mL}$ e dentro de $\pm 10 \%$ do valor inicial $> 480 \text{ pg/mL}$.

As interferências medicamentosas são determinadas com base nas recomendações fornecidas pelas directrizes do CLSI EP07 e EP37, e outra literatura publicada. Os efeitos de concentrações que excedam estas recomendações não foram caracterizados.

Em casos isolados, podem ocorrer interferências devido a títulos extremamente elevados de anticorpos contra anticorpos específicos do analito, contra a estreptavidina ou contra o ruténio. Estes efeitos são minimizados por um desenho de teste adequado.

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

Limites e intervalos

Intervalo de medição

150-2500 pg/mL (definido pelo Limite de Quantificação e pelo máximo da curva principal). Os valores inferiores ao Limite de Quantificação são indicados como $< 150 \text{ pg/mL}$ e os valores superiores ao intervalo de medição como $> 2500 \text{ pg/mL}$.

Limites inferiores de medição

Limite do Branco (LdB), Limite de Detecção (LdD) e Limite de Quantificação (LdQ)

Limite do Branco = 50 pg/mL

Limite de Detecção = 100 pg/mL

Limite de Quantificação = 150 pg/mL

O Limite do Branco, Limite de Detecção e Limite de Quantificação foram determinados em conformidade com os requisitos do protocolo EP17-A2 do CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).

O Limite do Branco é o valor do percentil 95 obtido a partir de $n \geq 60$ medições de amostras isentas de analito em várias séries independentes. O Limite do Branco corresponde à concentração abaixo da qual ficam as amostras isentas de analito, com uma probabilidade de 95 %.

O Limite de Detecção foi determinado com base no Limite do Branco e no desvio padrão de amostras com uma concentração baixa. O Limite de Detecção corresponde à concentração de analito mais baixa que pode ser detectada (valor acima do Limite do Branco, com uma probabilidade de 95 %).

O Limite de Quantificação é a concentração de analito mais baixa que pode ser medida de modo reprodutível com um CV de precisão intermédia $\leq 30 \%$.

Dados específicos sobre o desempenho

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

Precisão

A precisão foi determinada com reagentes Elecsys, amostras e controlos, de acordo com um protocolo (EP05-A3) do CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute): 2 séries por dia em duplicado, cada durante 21 dias ($n = 84$). Obtiveram-se os seguintes resultados:

Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF II

cobas®

Analisadores cobas e 402 e cobas e 801					
		Repetibilidade		Precisão intermédia	
Amostra	Média pg/mL	DP pg/mL	CV %	DP pg/mL	CV %
LCR humano 1	157	1.53	1.0	2.44	1.6
LCR humano 2	200	1.83	0.9	3.17	1.6
LCR humano 3	764	15.2	2.0	21.3	2.8
LCR humano 4	973	20.9	2.1	27.2	2.8
LCR humano 5	1042	21.2	2.0	30.1	2.9
LCR humano 6	1186	22.5	1.9	32.6	2.7
LCR humano 7	1243	27.7	2.2	37.3	3.0
LCR humano 8	2124	84.3	4.0	126	5.9
LCR humano 9	2290	21.6	0.9	28.6	1.2
PC ^{b)}	616	4.86	0.8	6.76	1.1
β -Amyloid (1-42) II 1					
PC	1689	12.6	0.7	18.2	1.1
β -Amyloid (1-42) II 2					

b) PC = PreciControl

Especificidade analítica

O teste é altamente específico para β -amilóide (1-42) humano. Observou-se a seguinte reactividade cruzada potencial.¹⁶

Reagente cruzado	Concentração testada pg/mL	Reactividade cruzada %
β -amilóide (1-38)	10000	< 0.9
β -amilóide (1-40)	10000	< 1.6

Comparação dos métodos

Uma comparação do ensaio Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF II, [REF] 08821941190 (analisador cobas e 402; y) com o ensaio Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF II, [REF] 08821941190 (analisador cobas e 801; x) teve como resultado as seguintes correlações (pg/mL):

Número de amostras medidas: 133

Passing/Bablok ¹⁷	Regressão linear
$y = 1.04x - 6.70$	$y = 1.03x - 1.85$
$r = 0.982$	$r = 0.999$

As concentrações das amostras variaram entre 168 e 2464 pg/mL.

Desempenho clínico

Cada laboratório deve verificar a transferibilidade dos valores teóricos para a sua própria população de doentes.

Nota: Os dados de desempenho clínico foram gerados utilizando o Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF II ([REF] 06986811190) de primeira geração, que apresenta uma elevada correlação com o Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF II. Num estudo interno de comparação de métodos (N = 103), o coeficiente de correlação de Pearson observado foi de 0.999. O Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF II foi repadronizado levando a diferenças sistemáticas entre a primeira e segunda versões. Estas diferenças foram tidas em consideração através da definição dos limiares de decisão clínica.

Concordância com leitura visual do exame PET de amilóide

A concordância com a leitura visual do PET foi avaliada num estudo retrospectivo (estudo Roche RD002145) com base nas amostras da coorte BioFINDER.¹⁸ A população da análise primária era composta por 277 doentes com sintomas cognitivos ligeiros (SCL) relativamente aos quais estavam disponíveis amostras de LCR incluídas num banco e resultados de exame PET (marcador PET: [18F]-Flutemetamol). Dos 277 doentes, 120 tinham declínio cognitivo subjectivo (DCS), 153 DCL e 4 não tinham qualquer atribuição disponível. A idade média eram 70 anos (intervalo 59-80 anos), 42 %/58 % dos doentes eram do sexo feminino/masculino e 45 %/54 % dos doentes eram portadores/não

portadores de ApoE4. A mediana (1.48*Desvio absoluto da mediana) dos marcadores Elecsys no início era a seguinte: Abeta42, 1048 (593) pg/mL medido com o Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF de primeira geração; pTau, 20.0 (9.4) pg/mL; tTau 240 (100) pg/mL. Os exames PET de amilóide foram lidos independentemente por 3 técnicos especializados e foi utilizada a votação por maioria para classificar uma imagem como positiva ou negativa, dando origem a 110 (40 %) resultados PET de amilóide positivos e 167 (60 %) negativos. Os cut-offs de Abeta42, e os rácios pTau/Abeta42 e tTau/Abeta42 foram estabelecidos com base na leitura visual do PET de amilóide.

As percentagens de concordância dos marcadores Elecsys CSF com a leitura visual do PET de amilóide eram as seguintes:

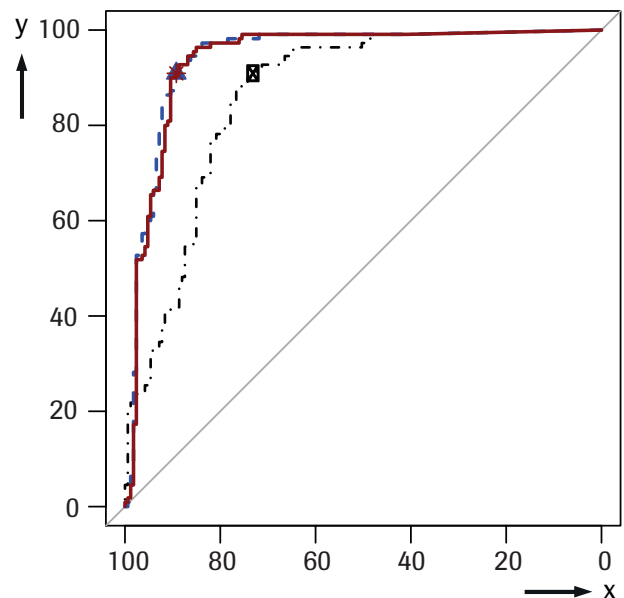
Percentagens de concordância [%] (IC de 95 %) ^{e)}			
	Abeta42	pTau/Abeta42	tTau/Abeta42
CPP ^{d)}	90.9 (83.9, 95.6)	90.9 (83.9, 95.6)	90.9 (83.9, 95.6)
CPN ^{e)}	72.5 (65.0, 79.1)	89.2 (83.5, 93.5)	89.2 (83.5, 93.5)
CPG ^{f)}	79.8 (74.6, 84.4)	89.9 (85.7, 93.2)	89.9 (85.7, 93.2)

c) Intervalo de Confiança

d) CPP = Concordância percentual positiva (sensibilidade)

e) CPN = Concordância percentual negativa (especificidade)

f) CPG = Concordância percentual global



x: CPN (Especificidade) (%) y: CPP (Sensibilidade) (%)

● - Abeta42 * - rácio tTau/Abeta42 ▲ - rácio pTau/Abeta42

Figura: Curva ROC (Receiver-Operating Characteristic) de Abeta42 e dos rácios pTau/Abeta42 e tTau/Abeta42 com resultado do exame PET de amilóide. O círculo/triângulo/asterisco indica CPP e CPN nos cut-offs dos 3 biomarcadores, respectivamente; Abeta42, AUC: 86.5 % (82.3 %, 90.7 %); pTau/Abeta42, AUC: 94.4 % (91.5 %, 97.3 %); tTau/Abeta42, AUC: 94.0 % (91.0 %, 97.0 %).

Identificação de doentes em risco de declínio cognitivo

A capacidade do marcador isolado Abeta42, assim como dos rácios de biomarcador pTau/Abeta42 ou tTau/Abeta42 para identificar doentes em maior vs. menor risco de declínio cognitivo, conforme definido pela alteração numa pontuação clínica durante um período de 2 anos, foi avaliada num estudo retrospectivo (estudo Roche RD002530) baseado em amostras dos estudos ADNI1/GO/2.¹⁹ A população da análise primária incluiu um total de 619 doentes das coortes de défice cognitivo ligeiro precoce (EMCI, 277) e tardio (LMCI, 342) com determinações de ensaio Elecsys CSF iniciais disponíveis. Para cada um destes doentes estavam também disponíveis avaliações iniciais das pontuações clínicas Clinical Dementia Rating - Sum of Boxes (CDR-SB) e Mini-Mental State Examination (MMSE). A idade média dos 619 indivíduos era 72 anos

Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF II

cobas®

(intervalo 54-91 anos), 41 %/59 % eram mulheres/homens, o tempo de educação médio era 16 anos (intervalo 6-20 anos) e 51 %/39 %/11 % eram portadores de 0/1/2 alelos ApoE4. As médias (desvio padrão, DP) das pontuações clínicas eram as seguintes: CDR-SB, 1.5 (0.9) no início, 2.3 (2.1) no seguimento dos 2 anos; MMSE, 27.7 (1.8) no início, 26.6 (3.3) no seguimento dos 2 anos. A mediana (1.48*Desvio absoluto da mediana) das concentrações do marcador Elecsys CSF no início era a seguinte: Abeta42, 838 (410) pg/mL; pTau, 24.0 (12.0) pg/mL; tTau, 257 (107) pg/mL.

A capacidade dos biomarcadores para separar doentes em menor vs. maior risco de declínio cognitivo (conforme medido pela alteração na CDR-SB ou MMSE), no prazo de 2 anos, foi avaliada utilizando modelos de efeitos mistos lineares. Os modelos foram ajustados de acordo com a idade, o sexo, o tempo de educação e o valor inicial da respectiva pontuação clínica.

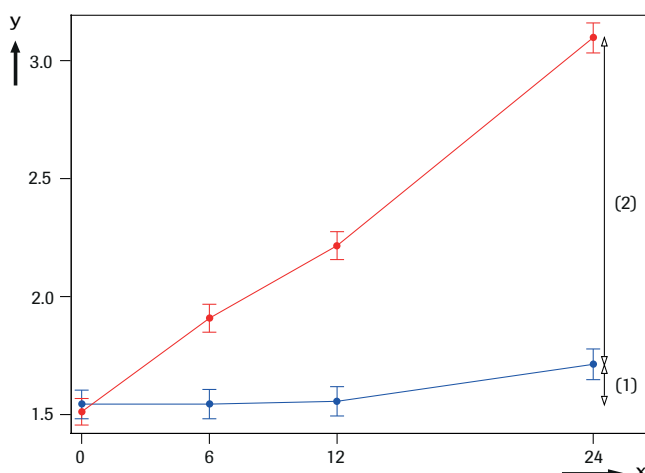
Devido aos diferentes procedimentos de manuseamento pré-analíticos entre o BIOFINDER e o ADNI, foi utilizado um estudo de ponte RD002475 para ajustar os cut-offs do Biofinder ao ADNI com base na otimização da concordância com o exame PET de amiloide.

Utilizando estes cut-offs para a análise do declínio cognitivo, a alteração média baseada no modelo das pontuações clínicas (CDR-SB; MMSE) entre os valores iniciais e aos 2 anos no grupo de biomarcadores negativos (efeito (1)) e a diferença na alteração das pontuações clínicas entre os grupos de biomarcadores positivos e negativos (efeito (2)) eram as seguintes:

Pontuação clínica	Biomarcador	Efeito (1) Estimativa (IC de 95 %)	Efeito (2) Estimativa (IC de 95 %)
CDR-SB	Abeta42	0.31 (0.16, 0.46)	1.10 (0.89, 1.31)
	pTau/Abeta42	0.17 (0.02, 0.32)	1.42 (1.21, 1.62)
	tTau/Abeta42	0.21 (0.07, 0.35)	1.41 (1.20, 1.62)
MMSE	Abeta42	-0.25 (-0.53, 0.04)	-1.79 (-2.19, -1.40)
	pTau/Abeta42	-0.08 (-0.36, 0.20)	-2.17 (-2.56, -1.77)
	tTau/Abeta42	-0.13 (-0.40, 0.14)	-2.19 (-2.58, -1.79)

Todos os 3 biomarcadores separaram doentes em menor vs. maior risco de declínio cognitivo no prazo de 2 anos. Os rácios revelaram um desempenho superior em comparação com o marcador isolado Abeta42. Por exemplo, a alteração na CDR-SB e MMSE em 2 anos entre os grupos de biomarcadores positivos e negativos de acordo com o rácio pTau/Abeta42 ou tTau/Abeta42 diferiu em mais de 1 e -2.5 unidades (limite de confiança inferior do efeito (2)), respectivamente. Os doentes com biomarcadores de rácios negativos não revelaram uma alteração na CDR-SB e MMSE em 2 anos de mais de 0.5 e -0.5 (limite de confiança superior do efeito (1)), respectivamente. Estes resultados não se alteraram depois do ajuste adicional para o genótipo ApoE4 (número de alelos E4).

Gráfico de evolução temporal baseado no modelo da alteração na CDR-SB em 2 anos para classificação baseada no rácio pTau/Abeta42 (sem ajuste para o genótipo ApoE4):



x: Consulta y: CDR-SB

Figura: Média derivada do modelo e erro padrão da CDR-SB nos grupos de rácio pTau/Abeta42 positivo (vermelho) e negativo (azul) durante o período de seguimento (eixo x; cronologia das consultas em meses). Efeitos (1) e (2) conforme acima descritos simbolizados por setas.

Cut-offs para concordância com PET e declínio cognitivo

Como o estudo BioFINDER utilizou um procedimento de manuseamento pré-analítico diferente em comparação com o descrito na secção "Colheita e preparação das amostras", foi determinado um factor de ajuste no estudo RD002842 para ajustar os cut-offs ao novo protocolo pré-analítico medido com o ensaio Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF II. O factor de ajuste foi gerado estabelecendo a ponte entre o procedimento de manuseamento pré-analítico, medido com o Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF de primeira geração, e o novo procedimento pré-analítico medido com o ensaio Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF II.

Os novos cut-offs derivado para a concordância com PET e declínio cognitivo, utilizando o procedimento pré-analítico descrito na secção "Colheita e preparação das amostras", são apresentados em baixo:

Se Abeta42 \leq 1030 pg/mL \Rightarrow resultado de teste positivo.

Se Abeta42 $>$ 1030 pg/mL \Rightarrow resultado de teste negativo.

Se rácio pTau/Abeta42* $>$ 0.023 \Rightarrow resultado de teste positivo.

Se rácio pTau/Abeta42* \leq 0.023 \Rightarrow resultado de teste negativo.

*O rácio deve ser arredondado para 4 casas decimais antes da comparação contra 0.023. Se a concentrações de analitos estiver fora do intervalo de medição, aplicam-se as seguintes regras:

Nos casos Abeta42 $<$ 150 pg/mL, Abeta42 $>$ 2500 pg/mL, pTau $>$ 120 pg/mL, pTau $<$ 8 pg/mL, o valor deve ser definido no respectivo limite do intervalo de medição e o rácio deve ser calculado.

Se rácio tTau/Abeta42* $>$ 0.28 \Rightarrow resultado de teste positivo.

Se rácio tTau/Abeta42* \leq 0.28 \Rightarrow resultado de teste negativo.

*O rácio deve ser arredondado para 3 casas decimais antes da comparação contra 0.28. Se a concentrações de analitos estiver fora do intervalo de medição, aplicam-se as seguintes regras:

Nos casos Abeta42 $<$ 150 pg/mL, Abeta42 $>$ 2500 pg/mL, tTau $>$ 1300 pg/mL, tTau $<$ 80 pg/mL, o valor deve ser definido no respectivo limite do intervalo de medição e o rácio deve ser calculado.

Bibliografia

- Vandenberghe R, Adamczuk K, Dupont P, et al. Amyloid PET in clinical practice: Its place in the multidimensional space of Alzheimer's disease. *Neuroimage Clinical* 2013;2:497-511.
- Blennow K, Zetterberg H, Anne M. Fluid Biomarkers in Alzheimer Disease. *Cold Spring Harb Perspect* 2012;2:a006221:1-23.
- Bates KA, Verdile G, Li QX, et al. Clearance mechanisms of Alzheimer's amyloid- β peptide: implications for therapeutic design and diagnostic tests. *Molecular Psychiatry* 2009;14:469-486.
- Lewczuk P, Mroczko B, Fagan A, et al. Biomarkers of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a current perspective. *Advances in Medical Sciences* 2015;60:76-82.
- Blennow K, Hampel H, Weiner M, et al. Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease. *Nat. Rev. Neurol.* 2010;6:131-144.
- Mattsson N, Zetterberg H, Hansson O, et al. CSF biomarkers and incipient Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. *JAMA.* 2009;302(4):385-393.
- Hampel H, Blennow K. CSF tau and β -amyloid as biomarkers for mild cognitive impairment. *Dialogues Clin Neurosci.* 2004;6(4):379-390.
- Blom ES, Giedraitis V, Zetterberg H, et al. Rapid progression from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease in subjects with elevated levels of tau in cerebrospinal fluid and the APOE epsilon4/epsilon4 genotype. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2009;27(5):458-464.

Elecsys β -Amyloid (1-42) CSF II

cobas®

- 9 Snider BJ, Fagan AM, Roe C, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers and rate of cognitive decline in very mild dementia of the Alzheimer type. Arch Neurol. 2009;66(5):638-645.
- 10 Li J-Q, Lan T, Hui-Fu W, et al. Risk factors for predicting progression from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis of cohort studies, J Neurol Neurosurg Psychiatry 2016; 87:476-484.
- 11 Jack CR, Albert MS, Knopman DS, et al. Introduction to the recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. Alzheimers Dement 2011;7:257-62.
- 12 Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, et al. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease. Alzheimers & Dement 2011;7:270-279.
- 13 Dubois B, Feldman HH, Jacova C, et al. Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria. Lancet Neurol 2014;13:614-629.
- 14 EMA/CHMP/SAWP/893622/2011; Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) ; 17 November 2011; Qualification opinion of Alzheimer's disease novel methodologies/biomarkers for the use of CSF AB 1-42 and t-tau signature and/or PET-amyloid imaging (positive/negative) as a biomarkers for enrichment, for use in regulatory clinical trials – in mild and moderate of Alzheimer's.
- 15 EMA/CHMP/539931/2014 2; Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP); 28 January 2016; Draft guideline on the clinical investigation of medicines for the treatment of Alzheimer's disease and other dementias.
- 16 Bittner T, Zetterberg H, Teunissen CE, et al. Technical performance of a novel, fully automated electrochemiluminescence immunoassay for the quantitation of β -amyloid (1-42) in human cerebrospinal fluid. Alzheimers Dement 2016;12:517-526.
- 17 Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.
- 18 http://biofinder.se/the_biofinder_study_group/
- 19 <http://www.adni-info.org/>

CE 0123



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com
+800 5505 6606



Para mais informações, consulte o manual do operador adequado ao analisador, as folhas de aplicação respectivas, a informação do produto e as Folhas de Métodos de todos os componentes necessários (caso estejam disponíveis no seu país).

Nesta Folha de Métodos é sempre utilizado um ponto como separador de casas decimais para marcar a separação entre o número inteiro e as partes fracionadas de um número decimal. Não são utilizados separadores de milhares.

Qualquer incidente grave ocorrido em relação com o dispositivo deve ser comunicado ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro em que os utilizadores e/ou doentes estão estabelecidos.

Símbolos

A Roche Diagnostics utiliza os seguintes símbolos e sinais além dos listados na norma ISO 15223-1 (nos EUA: visite dialog.roche.com para consultar a definição dos símbolos utilizados):

CONTENT	Conteúdo do dispositivo
SYSTEM	Analisadores/equipamentos em que os reagentes podem ser utilizados
REAGENT	Reagente
CALIBRATOR	Calibrador
→	Volume para reconstituição
GTIN	Global Trade Item Number

As alterações, as eliminações ou os acréscimos estão assinalados por uma barra de alteração na margem.

© 2021, Roche Diagnostics