

 IMMULITE<sup>®</sup> 2000

**AFP**

For use on IMMULITE<sup>®</sup> 2000 systems

**SIEMENS**



## Symbol Definition

**CONTROL -**

En: Negative Control  
De: Negativkontrolle  
Es: Control Negativo  
Fr: Contrôle négatif  
It: Controllo negativo  
Pt: Controllo Negativo

**CONTROL AB**

En: Control Antibody  
De: Kontroll-Antikörper  
Es: Anticuerpo Control  
Fr: Anticorps du contrôle  
It: Anticorpo di controllo  
Pt: Anticorpo do Controllo

**PRE A**

En: Pretreatment  
Solution

**PRE B**

De: Vorbehandlungs-  
lösung  
Es: Solución de  
Pretratamiento  
Fr: Solution de  
prétraitement  
It: Soluzione di  
pretrattamento  
Pt: Solução de Pré-  
tratamento

**DITHIOTHREITOL**

En: Dithiothreitol  
Solution  
De: Dithiothreitol-  
Lösung  
Es: Solución de  
Ditiotreitolo  
Fr: Solution de  
Dithiothreitol  
It: Soluzione di  
Ditiotreitolo  
Pt: Solução de  
Ditiotreitolo

**BORATE-KCN BUF**

En: Borate-KCN  
Buffer Solution  
De: Borat-KCN-Puffer  
Es: Solución Tampón  
Borato-KCN  
Fr: Solution tampon  
Borate-Cyanure de  
Potassium  
It: Soluzione  
Tampone Borato-KCN  
Pt: Solução  
Tamponizada de  
Borato-KCN

determinations of AFP are particularly valuable. The presence of residual tumor is strongly suggested if post-operative AFP concentrations fail to return to normal.<sup>9,15,23,29</sup> The accurate interpretation of post-surgical changes in AFP concentration requires consideration of its metabolic decay rate.<sup>21,22,24,25</sup> When utilizing AFP for monitoring therapy or disease recurrence during chemotherapy, it should be noted that levels often fall rapidly during chemotherapy, reaching normal levels while tumor masses are still evident.<sup>17,21</sup> In such instances, completion of the planned therapy has been recommended.<sup>21</sup>

Following therapy or surgery, serial measurements of AFP have also proved clinically useful when monitoring for progression or recurrence of disease in patients with nonseminomatous testicular cancer. It has been reported that AFP levels frequently rise during disease progression and fall during disease remission.<sup>9,17,19</sup> Elevated AFP levels have frequently been observed to accompany tumor recurrence before progressive disease is clinically evident.<sup>9,16</sup>

### Fetal Open Neural Tube Defects

AFP is detectable not only in fetal serum, but also in amniotic fluid and maternal serum. A concentration gradient exists such that when the fetal serum AFP level is 2000 kIU/mL, the amniotic fluid AFP (AFAP) level is 20 kIU/mL, and the maternal serum AFP (MSAFP) is 0.02 kIU/mL. In normal pregnancy, the fetal serum AFP concentration peaks at 14 weeks gestation.<sup>34</sup> The AFAP concentration peaks at about 12 weeks and the MSAFP peaks at approximately 28–32 weeks gestation.<sup>36</sup> The fall in AFAP concentration reflects the fall in fetal serum AFP concentration which results from increased fetal size and fluid volume.<sup>34</sup> Elevated levels of MSAFP and AFAP may occur most often due to multiple pregnancy and due to incorrect gestational age.

Measurement of AFP concentrations is clinically valuable in screening for open NTDs and other fetal abnormalities.<sup>35</sup> Pregnancies associated with open NTDs present with elevated AFP levels. Excess AFP gains access to amniotic fluid, and to a lesser extent to the maternal serum, by

transudation across the exposed surface of the fetus or across damaged glomeruli.<sup>35,37</sup> These conditions are found in open NTDs including open spina bifida and anencephaly, omphalocele, and congenital nephrosis.<sup>32,39</sup> Additional causes of elevated AFP concentrations including both maternal and fetal sources are impending spontaneous abortion, fetal distress or death, oligohydramnios, toxemia, gastroschisis, Meckel's syndrome, sacrococcygeal teratoma, Turner's syndrome and maternal hepatic and oncologic disorders.<sup>35</sup>

Recommended protocols for open NTD screening have been published.<sup>33,35</sup> The cutoff levels for maternal serum and amniotic fluid can be chosen to optimize the needs of the populations being tested based upon varying prevalence of open NTDs. Cutoffs commonly utilize multiples of the median of 2.0 or 2.5 for MSAFP and AFAP testing. The optimal time for screening MSAFP is between the 16th and 18th weeks of pregnancy, although screening is still effective before or after this period. Elevated AFP concentrations may be subjected to a repeat sampling and analysis to exclude transient rises.

More commonly, ultrasonography is employed to rule out multiple pregnancies and to confirm gestational age. Ultrasonography may also identify signs of open NTDs, particularly anencephaly which is a large, easily visualized lesion. If correction for gestational age or multiple pregnancy does not result in an AFP concentration within the normal range, then diagnostic ultrasonography and/or amniotic fluid sampling is indicated. The greatest diagnostic power can be achieved by combining biochemical analysis of amniotic fluid and diagnostic ultrasonography in cases of a positive MSAFP screen.<sup>35</sup>

Elevated MSAFP results are not diagnostic for NTDs and should not be considered a cause for termination of pregnancy. An overlap exists in the distributions of AFP concentrations from pregnancies with and without open NTDs. Closed NTDs, for example, are not usually associated with increased MSAFP or AFAP concentrations. Thus, further testing is required to define fetal status. In light of these considerations and the multiple causes for elevated AFP



**Symbol Definition**

En: Consult instructions for use  
 De: Bedienungsanweisung beachten  
 Es: Consulte las instrucciones de uso  
 Fr: Consulter le mode d'emploi /'uso  
 Pt: Consulte as instruções de utilização

**Symbol Definition**

En: Do not freeze (> 0°C)  
 De: Nicht einfrieren (> 0°C)  
 Es: No congelar (> 0°C)  
 Fr: Ne pas congeler (> 0°C)  
 Pt: Não congelar (> 0°C)



En: Do not reuse  
 De: Nicht zur Wiederverwendung  
 Es: No reutilizar  
 Fr: Ne pas réutiliser  
 Pt: Não reutilizar



En: Caution! Potential Biohazard Riskomaterial  
 De: Vorsicht! Biologisches Risikomaterial  
 Es: ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial  
 Fr: Avertissement ! Risque biologique potentiel  
 Pt: Atenção! Potencial Riscos Biológicos



En: Keep away from sunlight  
 De: Vor Sonneneinstrahlung schützen  
 Es: Proteger de la luz solar  
 Fr: Maintenir hors de portée de la lumière du soleil  
 Pt: Manter afastado da luz solar



En: Temperature limitation (2-8°C)  
 De: Temperaturgrenze (2-8°C)  
 Es: Limitación de temperatura (2-8°C)  
 Fr: Limites de température (2-8°C)  
 Pt: Limites de temperatura (2-8°C)



En: Batch code  
 De: Chargenbezeichnung  
 Es: Número de lote  
 Fr: Numéro de code du lot  
 Pt: Código de lote



En: Contains sufficient for (n) tests  
 De: Es reicht für (n) Tests  
 Es: Contiene suficiente para (n) pruebas  
 Fr: Contient du matériel suffisant pour (n) tests  
 Pt: Contém o suficiente para (n) testes



En: Upper limit of temperature (≤ -20°C)  
 De: Obere Temperaturgrenze (≤ -20°C)  
 Es: Límite superior de temperatura (≤ -20°C)  
 Fr: Limite supérieure de température (≤ -20°C)  
 Pt: Limite máximo de temperatura (≤ -20°C)

**2008-01**

En: Lower limit of temperature (≥ 2°C)  
 De: Mindesttemperatur (≥ 2°C)  
 Es: Límite inferior de temperatura (≥ 2°C)  
 Fr: Limite inférieure de température (≥ 2°C)  
 Pt: Limite mínimo de temperatura (≥ 2°C)



En: Use by  
 De: Verwendbar bis  
 Es: Fecha de caducidad  
 Fr: A utiliser avant  
 Pt: Usar até



En: Harmful  
 De: Gesundheitsschädlich  
 Es: Nocivo  
 Fr: Nocif  
 Pt: Nocivo

**Amniotic Fluid Dilution Factor: 100**  
 All amniotic fluid samples must first be diluted 1-in-101 using on-board Multi-Diluent 2 before being assayed. Select 100 in the Dilution Factor window.

**Storage**

**Serum:** 3 days at 2-8°C. Freeze at -20°C if not assayed within 3 days.

**Amniotic Fluid:** Amniotic fluid samples should be stored at -20°C. Aliquot if necessary to avoid repeated freezing and thawing. Allow the sample to come to room temperature (15-28°C) before assay, and mix by *gentle* swirling or inversion. Do not attempt to thaw specimens by heating them in a waterbath. If specimens are to be mailed, samples should be packed in dry ice if the time in transit exceeds 72 hours, or if elevated temperatures are a concern, as in warm climates or during the summer. If a repeat analysis is required, the original type of specimen should be taken to maintain consistency of results.

**Warnings and Precautions**

For *in vitro* diagnostic use.

**Reagents:** Store at 2-8°C. Dispose of in accordance with applicable laws.

Follow universal precautions, and handle all components as if capable of transmitting infectious agents. Source materials derived from human blood were tested and found nonreactive for syphilis; for antibodies to HIV 1 and 2; for hepatitis B surface antigen; and for antibodies to hepatitis C.

Sodium azide, at concentrations less than 0.1 g/dL, has been added as a preservative. On disposal, flush with large volumes of water to prevent the buildup of potentially explosive metal azides in lead and copper plumbing.

**Chemiluminescent Substrate:** Avoid contamination and exposure to direct sunlight (see insert).

**Water:** Use distilled or deionized water.

**Materials Supplied**

Components are a matched set. Labels on the inside box are needed for the assay.

**AFP Bead Pack (L2AP12)**

With barcode. 200 beads, coated with murine monoclonal anti-AFP. Stable at 2-8°C until expiration date.  
**L2KAP2:** 1 pack **L2KAP6:** 3 packs

**AFP Reagent Wedge (L2APAZ)**

With barcode. 11.5 mL of a protein buffer/nonhuman serum matrix; and 11.5 mL of alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to polyclonal rabbit anti-AFP, in buffer. Stable at 2-8°C until expiration date.  
**L2KAP2:** 1 wedge **L2KAP6:** 3 wedges

Before use, tear off the top of the label at the perforations, without damaging the barcode. Remove the foil seal from the top of wedge; snap the sliding cover down into the ramps on the reagent lid.

**AFP Adjustors (L2APJ3, L2APJ4)**

Two vials (Low and High), 2.0 mL each, of AFP in a bovine serum matrix. Stable at 2-8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquoted) at -20°C.  
**L2KAP2:** 1 set **L2KAP6:** 2 sets

Before making an adjustment, place the appropriate Aliquot Labels (supplied with the kit) on test tubes, so that the barcodes can be read by the on-board reader.

**Kit Components Supplied Separately****Multi-Diluent 2 (L2M2Z, L2M2Z4)**

For the on-board dilution of high serum samples and for amniotic fluid samples. One vial of concentrated (ready-to-use), nonhuman protein/buffer matrix, with preservative. Stable at 2-8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquoted) at -20°C.  
**L2M2Z:** 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 x 100 mm test tube, so that the barcode can be read by the on-board reader.  
**L2M2Z:** 3 labels **L2M2Z4:** 5 labels

**Analysis of amniotic fluid requires a 1-in-101 dilution of the sample (on-board dilution with Multi-Diluent 2).**

**L2SUBM:** Chemiluminescent Substrate  
**L2PWSM:** Probe Wash  
**L2KPM:** Probe Cleaning Kit



O ensaio também foi comparado com o kit de AFP IMMULITE em amostras de soro materno, numa amplitude de aproximadamente 10 a 120 IU/mL. Por regressão linear:

$$(IML\ 2000) = 1,01 (IML) + 0,154 IU/mL$$

$$r = 0,982$$

$$n = 346$$

Médias:  
33,8 IU/mL (IML)  
34,3 IU/mL (IML 2000)

95% intervalo de Confiança (CI)	Desvio	Interceptar
Mais baixo	0,99	-0,60
Parte superior	1,03	0,91

### Sensibilidade Clínica para Soro Materno, n = 9:

Semana gestacional	2,0 MoM	2,5 MoM	3,0 MoM	% >	% >
15-20	100%	77,8%	66,7%	66,4%	40,0%
95% CI para todas as amostras	100%	97,2%	92,5%	100%	97,2%

### Especificidade Clínica para Soro Materno:

Semana gestacional	n	2,0 MoM	2,5 MoM	3,0 MoM	% ≤	% ≤
15	276	94,2%	97,5%	98,6%	94,2%	97,8%
16	304	96,1%	99,0%	99,7%	96,1%	98,7%
17	272	97,1%	99,3%	99,6%	97,1%	99,1%
18	287	95,8%	98,6%	99,3%	95,8%	98,6%
19	152	93,4%	98,0%	99,3%	93,4%	98,0%
20	41	95,1%	100%	100%	95,1%	100%
15-20	1332	95,5%	98,6%	99,3%	95,5%	98,6%
95% CI para todas as amostras		94,2%-96,5%	97,8%-99,1%	98,7%-99,7%	94,2%-96,5%	97,8%-99,1%

### Sensibilidade Clínica para Líquido Amniótico, n = 8:

Semana gestacional	2,0 MoM	2,5 MoM	3,0 MoM	% >	% >
15-20	87,5%	87,5%	87,5%	87,5%	87,5%
95% CI para todas as amostras	47,3%-99,7%	47,3%-99,7%	47,3%-99,7%	47,3%-99,7%	47,3%-99,7%

### Especificidade Clínica para Líquido Amniótico:

Semana gestacional	n	2,0 MoM	2,5 MoM	3,0 MoM	% ≤	% ≤
15	53	100%	100%	100%	100%	100%
16	50	98,0%	100%	100%	98,0%	100%
17	28	100%	100%	100%	100%	100%
18	20	100%	100%	100%	100%	100%
19	13	92,3%	100%	100%	92,3%	100%
20	10	100%	100%	100%	100%	100%
15-20	174	98,9%	100%	100%	98,9%	100%
95% CI para todas as amostras		95,9%-99,9%	97,9%-100%	97,9%-100%	95,9%-99,9%	97,9%-100%

serum AFP levels. However, elevated AFP levels have been observed in patients diagnosed with seminomas accompanied by metastases of nonseminomatous testicular cancer.<sup>8</sup>

A significant increase of AFP levels in patients considered free of metastatic tumor may indicate the development of metastasis. Elevated levels after surgery may indicate incomplete removal of the tumor or the presence of metastases.

Elevated levels of serum AFP are associated with benign liver conditions such as hepatitis and cirrhosis. Most (95%) of the patients with these benign diseases have AFP levels lower than 200 ng/mL (165 IU/mL).<sup>8-15</sup>

### AFP Values in Maternal Serum and Amniotic Fluid

Due to potential variation in testing at different laboratories, it is recommended that a particular testing center determine its own set of median AFP values for weeks 15 to 20 of gestation, measured in the population to be screened. Cutoff values commonly utilize multiples of the medians (MoM) of 2.0 or 2.5 for maternal serum and amniotic fluid testing. Each AFP test result can then be expressed as a multiple of the unaffected population median value. This is obtained by dividing the AFP value by the median value for its corresponding gestational week. Gestational weeks are defined as completed gestational weeks; e.g., 16 weeks, 6 days would be considered the 16th week. It has been recommended that median and MoM values determined for each gestational week be based upon at least 100 maternal sera and 50 amniotic fluids from unaffected singleton pregnancies with confirmed gestational age.

Provided below are medians for maternal serum samples, calculated by a weighted log-linear regression from data collected from unaffected, singleton pregnancies at three clinical sites in the United States:

Gestational Week	No. of Specimens	Medians IU/mL*	Multiples of Regressed Medians (IU/mL)		
			2.0	2.5	3.0
15	370	24.9	49.8	62.3	74.7
16	605	28.5	57.0	71.3	85.5
17	589	32.6	65.2	81.5	97.8
18	431	37.2	74.4	93.0	111.6
19	221	42.5	85.0	106.3	127.5
20	91	48.6	97.2	121.5	145.8

\*Regressed

Provided below are medians for amniotic fluid samples, calculated by a weighted log-linear regression from data collected from unaffected, singleton pregnancies at two clinical sites in the United States:

Gestational Week	No. of Specimens	Medians kIU/mL*	Multiples of Regressed Medians (kIU/mL)		
			2.0	2.5	3.0
15	76	13.0	26.0	32.5	39.0
16	89	10.7	21.4	26.8	32.1
17	53	8.73	17.5	21.8	26.2
18	54	7.14	14.3	17.9	21.4
19	46	5.84	11.7	14.6	17.5
20	23	4.78	9.56	12.0	14.3

\*Regressed

### Limitations

**Diagnosis:** The occurrence of elevated serum AFP levels in conditions other than nonseminomatous testicular cancer precludes the use of AFP measurements in the diagnosis of nonseminomatous testicular cancer.

**Screening:** AFP measurements can not be recommended as a screening procedure to detect cancer in the general population. Elevated concentrations of serum AFP have been observed not only in patients with nonseminomatous testicular cancer but also in malignant conditions such as hepatocellular carcinoma, ovarian cancer, and gastrointestinal and pulmonary cancer. Benign hepatic conditions such as acute viral hepatitis, chronic active hepatitis and cirrhosis may present with elevated concentrations of serum AFP. Elevated AFP concentrations have also been observed in pregnancy, ataxia telangiectasia and hereditary tyrosinemia.



Abaixo pode encontrar médias para amostras de líquido amniótico, calculadas com base numa regressão linear calculada da informação recolhida de gravidezes simples, não afectadas, em duas clínicas dos Estados Unidos:

Semana gestacional	N. de Espéc. clonal	Médias mens. kIU/mL*	Múltiplos de médias que registaram (kIU/mL)
15	76	13,0	2,0
16	89	10,7	2,5
17	53	8,73	2,5
18	54	7,14	2,5
19	46	5,84	2,5
20	23	4,78	2,5

\*Regredidos

### Limitações

**Diagnóstico:** A ocorrência de níveis elevados de AFP em soro em outras doenças além de câncer testicular não seminomatoso previne o uso de medições de AFP no diagnóstico de doenças outras que não câncer testicular não seminomatoso.

**Rastreio:** Doseamentos de AFP não podem ser recomendados como procedimento de rastreio para detectar carcinoma na população em geral. Concentrações elevadas de AFP em soro foram observadas não só em pacientes com carcinoma testicular não seminomatoso mas também em doenças malignas como carcinoma hepatocelular, carcinoma de ovário, e carcinoma pulmonar e gastrintestinal. Doenças hepáticas benignas como hepatite viral aguda, hepatite crônica ativa e cirrose podem apresentar concentrações elevadas de AFP também foram observadas na gravidez, telangiectasia ataxia e tiosinemia hereditária.

**Análises pré-natais:** Uma avaliação credível de AFP para testes pré-natais requer uma determinação exacta da idade gestacional. Um cálculo por defeito da idade gestacional pode conduzir a determinações positivas falsas, ao mesmo tempo que um cálculo por excesso da idade gestacional pode resultar numa interpretação negativa falsa. Quando a idade gestacional é incerta,

### recomenda-se a confirmação através de ecografia.

Os anticorpos heterofílicos no soro humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes no ensaio, causando interferência com os imunoenaios *in vitro*. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34:27-33.] Amostras de doentes expostas em rotina a produtos ou soros de animais podem demonstrar este tipo de interferência, potencial causador de resultados anómalos. Estes reagentes foram formulados para minimizar o risco de interferência, contudo podem ocorrer potenciais interações entre soros (raros) e componentes do teste. Para fins de diagnóstico, os resultados obtidos neste ensaio devem ser sempre analisados em combinação com o exame clínico, história de medicação do doente e outros achados que possam correlacionar.

### Características Do Ensaio

Consulte Tabelas e Gráficos para dados representativos do desempenho do doseamento. Os resultados são apresentados em IU/mL. A não ser quando de outra forma referido, todas foram geradas em amostras de soro recolhidas de pacientes com cancro dos testículos.

#### Factor de conversão:

IU/mL x 1,21 → ng/mL

**Calibração:** Até 300 IU/mL (363 ng/mL) (WHO 1st IS 72/225)

**Sensibilidade Analítica:** 0,2 IU/mL (0,24 ng/mL)

**Efeito Hook de Alta Dose:** Nenhum até 534 000 IU/mL

**Precisão:** As amostras foram doseadas em duplicado durante 20 dias. 2 ensaios por dia, perfazendo um total de 40 ensaios e 80 réplicas. (Ver a tabela de "Precision".)

**Linearidade:** As amostras de soro e de líquido amniótico foram ensaiadas com vários diluentes. (Ver a tabela de "Linearity" para dados representativos.)

**Recuperação:** Foram analisadas amostras de soro divididas 1-em-20 com três soluções AFP (286, 700 e 1324 IU/mL). Também foram analisadas

IMMULITE 2000 AFP (PIL2KAP-21, 2014-02-26)

The assay was also compared to IMMULITE AFP on maternal serum samples, in the range from approximately 10 to 120 IU/mL. By linear regression: (IML 2000) = 1.01 (IML) + 0.154 IU/mL  
r = 0.982  
n = 346

Means:  
33.8 IU/mL (IML)  
34.3 IU/mL (IML 2000)

95% Confidence Interval (CI)	Slope	Intercept
Lower	0.89	0.94
Upper	0.93	2.68

(IML 2000) = 0.73 (Kit B) + 5.22 IU/mL  
r = 0.97  
n = 1015

95% Confidence Interval (CI)	Slope	Intercept
Lower	0.72	4.66
Upper	0.74	5.79

In one of the the studies above, IMMULITE 2000 AFP results were compared to Kit B in a linear regression for amniotic fluid samples, in the range from nondetectable to 286 kIU/mL\*. (IML 2000) = 0.79 (Kit B) + 2.27 kIU/mL  
r = 0.99  
n = 200

95% Confidence Interval (CI)	Slope	Intercept
Lower	0.77	1.78
Upper	0.81	2.76

\* Amniotic fluid samples were diluted 1-in-101 automatically by the IMMULITE 2000 instrument.

The assay was also compared to IMMULITE AFP on amniotic fluid samples, in the range from approximately 3 to 20 kIU/mL\*. (See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 1.03 (IML) + 0.52 kIU/mL  
r = 0.96  
n = 46

Means:  
10.0 kIU/mL (IML)  
10.8 kIU/mL (IML 2000)

95% Confidence Interval (CI)	Slope	Intercept
Lower	0.93	-0.50
Upper	1.12	1.54

\* Amniotic fluid samples were diluted 1-in-101 automatically by the IMMULITE 2000 instrument.

### Clinical Sensitivity for Maternal Serum, n = 9:

Gestational Week	% > 2.0 MoM	% > 2.5 MoM	% > 3.0 MoM
15-20	100%	77.8%	66.7%
95% CI for All Samples	66.4%–100%	40.0%–97.2%	29.9%–92.5%

### Clinical Specificity for Maternal Serum:

Gestational Week	n	% ≤ 2.0 MoM	% ≤ 2.5 MoM	% ≤ 3.0 MoM
15	276	94.2%	97.5%	98.6%
16	304	96.1%	99.0%	99.7%
17	272	97.1%	99.3%	99.6%
18	287	95.8%	98.6%	99.3%
19	152	93.4%	98.0%	99.3%
20	41	95.1%	100%	100%
15-20	1332	95.5%	98.6%	99.3%
95% CI for All Samples		94.2%–96.5%	97.8%–99.1%	98.7%–99.7%

### Clinical Sensitivity for Amniotic Fluid, n = 8:

Gestational Week	% > 2.0 MoM	% > 2.5 MoM	% > 3.0 MoM
15-20	87.5%	87.5%	87.5%
95% CI for All Samples	47.3%–99.7%	47.3%–99.7%	47.3%–99.7%



humana, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2-8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a -20°C.

**L2MZZ:** 25 mL **L2MZZ4:** 55 mL

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente.

Antes de usar, colocar a etiqueta

apropriada num tubo de teste

(16 x 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.

**L2MZZ:** 3 etiquetas **L2MZZ4:** 5 etiquetas

**A análise do líquido amniótico requer uma diluição da amostra 1-em-101 (diluição on-board com Multi-Diluyente 2).**

**L2SUBM:** Substrato quimioluminescente

**L2PWSM:** Solução de lavagem

**L2KPM:** Kit de limpeza do pipetador

**LRXT:** Tubos de reação (descartáveis)

**L2ZT:** 250 Tubos de diluente da amostra (16 x 100 mm)

**L2ZC:** 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

Também necessário

Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos

## Procedimento do doseamento

Ter em atenção que para obter um desempenho ótimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000.

Consultar o Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000 relativamente aos procedimentos de preparação, diluição, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

**Intervalo entre ajustes aconselhável:** 4 semanas

## Amostras de controlo de qualidade:

Observe os regulamentos governamentais ou os requisitos de acreditação quanto a frequência do controlo de qualidade.

Utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de AFP.

A Siemens Healthcare Diagnostics recomenda a utilização de materiais de controlo de qualidade comercialmente disponíveis com pelo menos 2 níveis (baixo e alto). É alcançado um nível de desempenho satisfatório quando os

valores dos análises obtidos estiverem dentro dos Limites de Controlo Aceitáveis para o sistema ou dentro dos limites estabelecidos e determinados pelo regime de controlo de qualidade laboratorial interno adequado.

## Valores de Referência

**Níveis de AFP em pacientes com cancro dos testículos**

Baseado na sua relação com a AFP IMMULITE (ver comparação de métodos), pode-se esperar que o doseamento tenha valores de referência indênticos.

Num estudo realizado em duas clínicas,

119 amostras de soro de homens aparentemente saudáveis (idade mediana: 61; percentil 95%: 27 a 79 anos) foram

processadas pelo doseamento com

IMMULITE AFP. Os resultados alcançaram

de 0,5 a 5,5 IU/mL, com uma mediana de

1,6 IU/mL e um percentil de 99% de

5 IU/mL.

O estudo também incluiu homens com

câncer testicular; pacientes com outras

condições malignas (do fígado, bexiga,

rim, pâncreas, pulmão, próstata e cólon),

pacientes com condições não malignas

(como cirrose, hepatite B e C, colite

ulcerativa, enfisema, pólipos no cólon e

reto); e algumas mulheres aparentemente

saudáveis. A distribuição dos resultados

de IMMULITE AFP está tabulada abaixo

(com o número total para cada grupo

entre parênteses).

## Linearity (IU/mL) – Serum

Total Dilution <sup>1</sup>	Observed <sup>2</sup>		Expected <sup>3</sup>		%O/E <sup>4</sup>
	Observed <sup>2</sup>	Expected <sup>3</sup>	Observed <sup>2</sup>	Expected <sup>3</sup>	
3	1 in 100	7.8	7.8	—	—
	1 in 200	4.0	4.0	3.9	103%
	1 in 400	2.2	2.0	2.0	110%
1 in 800	1 in 8	1.1	1.0	1.0	110%
	2 in 8	2.3	—	—	—
	4 in 8	12	12	12	100%
2 in 8	2 in 8	6.3	5.8	5.8	109%
	1 in 8	3.1	2.9	2.9	107%
	8 in 8 <sup>5</sup>	90	—	—	—
4 in 8	4 in 8	50	45	45	111%
	2 in 8	23	23	23	100%
	1 in 8	12	11	11	109%
4 in 8	8 in 8	143	—	—	—
	4 in 8	73	72	72	101%
	2 in 8	37	36	36	103%
1 in 8	1 in 8	20	18	18	111%
	8 in 8	288	—	—	—
	4 in 8	138	144	144	96%
2 in 8	2 in 8	79	72	72	110%
	1 in 8	39	36	36	108%

## Recovery (IU/mL) – Serum

Solution <sup>1</sup>	Observed <sup>2</sup>		Expected <sup>3</sup>		%O/E <sup>4</sup>
	Observed <sup>2</sup>	Expected <sup>3</sup>	Observed <sup>2</sup>	Expected <sup>3</sup>	
1	—	7.8	—	—	—
	A	21	22	22	96%
	B	40	42	42	95%
2	—	32	—	—	—
	A	44	48	48	92%
	B	61	65	65	94%
3	—	65	—	—	—
	A	76	76	76	100%
	B	98	97	97	101%
4	—	124	—	—	—
	A	125	132	132	95%
	B	147	153	153	96%
5	—	151	—	—	—
	A	159	158	158	101%
	B	182	179	179	102%
6	—	250	—	—	—
	A	247	252	252	98%
	B	261	273	273	96%

## Linearity (IU/mL) – Amniotic Fluid

Total Dilution <sup>1</sup>	Observed <sup>2</sup>		Expected <sup>3</sup>		%O/E <sup>4</sup>
	Observed <sup>2</sup>	Expected <sup>3</sup>	Observed <sup>2</sup>	Expected <sup>3</sup>	
1	1 in 100 <sup>5</sup>	153	—	—	—
	1 in 200	76	77	77	99%
	1 in 400	37	38	38	97%
1 in 800	1 in 800	19	19	19	100%
	1 in 1600	9.0	9.6	9.6	94%
	1 in 3200	4.6	4.8	4.8	96%
2	1 in 100	190	—	—	—
	1 in 200	91	95	95	96%
	1 in 400	47	48	48	98%
1 in 800	1 in 800	24	24	24	100%
	1 in 1600	13	12	12	108%
	1 in 3200	5.9	5.9	5.9	99%



tempo para medir o soro materno como o líquido amniótico.

**Observação:** A Brochura do Médico IMMULITE 2000 AFP (Cat. #ZS1105) e a Brochura do Paciente (Cat. #ZS1106), explicando o uso do teste pré-natal AFP para ajudar na detecção de abertura do NTD encontram-se à sua disposição contactando o seu distribuidor nacional.

## Princípio do procedimento

IMMULITE 2000 AFP é um solid-phase, assay immunometric chemiluminescent sequencial do dois-local.

**Ciclos de incubação:** 2 x 30 minutos

## Colheita

**Soro:** Recolha sangue por flebotomia<sup>31</sup> para tubos de ensaio e separe o soro das células assim que possível. Os espécimens devem ser obtidos antes da amniocentese para obter um espécimen válido.

Recomenda-se o uso de uma ultra centrífuga para clarear amostras lipémicas.

Amostras hemolisadas podem indicar tratamento incorrecto de uma amostra antes do envio para o laboratório; portanto os resultados devem ser interpretados com cuidado.

Amostras ictericas ou totalmente contaminadas podem causar resultados errados.

A centrifugação de amostras de soro antes da formação completa do coágulo pode resultar na presença de fibrina. Para prevenir resultados errados devido a presença de fibrina, certifique-se que a formação do coágulo foi completa antes da centrifugação das amostras. Algumas amostras, em especial as de doentes que recebem terapia anticoagulante podem requerer um maior tempo de formação do coágulo.

Os tubos para colheita sanguínea de diferentes fabricantes, podem originar diferentes valores, dependendo dos materiais e aditivos, incluindo gel ou barreiras físicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 AFP não foram ainda testados com todas as possíveis variações originadas pelos tipos de tubos.

**Líquido Amniótico:** Recolha líquido amniótico por amniocentese para tubos de ensaio. As amostras devem ser obtidas através de amniocentese transabdominal asséptica efectuada por um obstetra experiente durante o segundo trimestre de gravidez em mulheres com uma idade gestacional confirmada. Centrifuge o espécimen, retendo uma porção do fluante transparente. Inspeccione tanto o fluante como os sedimentos para verificar se há sinais de sangue ou hemoglobina, uma vez que até a contaminação por vestígios de matéria do feto fará aumentar a concentração aparente de AFP da amostra, tornando-a imprópria para análise. A origem da matéria do feto deve ser determinada por uma análise para detecção de hemoglobina no feto. Se tiver ocorrido a contaminação do feto e a concentração de AFP for elevada, deve ser obtido um espécimen adicional 7 a 10 dias depois, para avaliação. A contaminação do líquido amniótico pelo soro materno pode reflectir níveis exactos de AFP desde que o grau de contaminação não seja suficiente para diluir a amostra. Para efeitos deste folheto, o líquido amniótico refere-se ao fluante transparente obtido a partir do líquido amniótico por centrifugação.

**Prazo:** É essencial saber a idade gestacional para avaliar os resultados AFP. O tempo recomendado para recolha é 16 a 18 semanas para o soro e 16 a 20 semanas para o líquido amniótico. As amostras de soro devem ser recolhidas antes da amniocentese uma vez que este procedimento pode levar a níveis simuladamente elevados de soro materno durante 2 a 3 semanas.

**Volume de amostra**

**Soro:** 10 µL

**Líquido amniótico:** 10 µL de um espécimen de líquido amniótico pré-diluído

## Factor de Diluição do Líquido Amniótico: 100

Todas as amostras de líquido amniótico devem ser primeiro diluídas 1-em-101 utilizando Multi-Dilúente 2 antes do ensaio. Selecciono 100 na janela do Factor de Diluição.

**Italiano, Precision:** <sup>1</sup>Intra-serie, <sup>2</sup>Totale, <sup>3</sup>Media, <sup>4</sup>SD (Deviazione Standard), <sup>5</sup>CV (Coefficiente di Variazione), **Linearity – Serum:** <sup>1</sup>Diluzione, <sup>2</sup>Osservato (O), <sup>3</sup>Atteso (A), <sup>4</sup>%O/A, <sup>5</sup>8 in 8. **Linearity – Amniotic Fluid:** <sup>1</sup>Diluzione totale, <sup>2</sup>Osservato (O), <sup>3</sup>Atteso (A), <sup>4</sup>%O/A, <sup>5</sup>1 in 100. **Recovery – Serum:** <sup>1</sup>Soluzione, <sup>2</sup>Osservato (O), <sup>3</sup>Atteso (A), <sup>4</sup>%O/A, **Recovery – Amniotic Fluid:** <sup>1</sup>Liquido amniotico bassa, <sup>2</sup>Spiking liquido amniotico alta, <sup>3</sup>Osservato (O), <sup>4</sup>Atteso (A), <sup>5</sup>%O/A, **Specificity:** <sup>1</sup>Composto, <sup>2</sup>quantità aggiunta, <sup>3</sup>Percentuale di Crossreattività, <sup>4</sup>ND, non determinabile, **Bilirubin:** bilirubina (non coniugato), <sup>1</sup>Atteso (A), <sup>2</sup>Osservato (O), <sup>3</sup>%O/A, **Portuguese, Precision:** <sup>1</sup>Entre-ensaios, <sup>2</sup>Total, <sup>3</sup>Media, <sup>4</sup>Desvio padrão, <sup>5</sup>Coefficiente de variação, **Linearity – Serum:** <sup>1</sup>Diluição, <sup>2</sup>Osservado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>%O/E, <sup>5</sup>8 em 8. **Linearity – Amniotic Fluid:** <sup>1</sup>Diluição total, <sup>2</sup>Osservado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>%O/E, <sup>5</sup>1 em 100, **Recovery – Serum:** <sup>1</sup>Solução, <sup>2</sup>Osservado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>%O/E, **Recovery – Amniotic Fluid:** <sup>1</sup>Líquido amniótico baixa, <sup>2</sup>Spiking líquido amniótico alta, <sup>3</sup>Osservado (O), <sup>4</sup>Atteso (A), <sup>5</sup>%O/A, **Specificity:** <sup>1</sup>Composto, <sup>2</sup>Quantidade adicionada, <sup>3</sup>Porcentagem de reacção cruzada, <sup>4</sup>ND, não detectável, **Bilirubin:** bilirubina (não-coniugado), <sup>1</sup>Esperado (E), <sup>2</sup>Osservado (O), <sup>3</sup>%O/E.

## Deutsch

### IMMULITE 2000 AFP

**Anwendung:** Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme — zur quantitativen Messung von Alphafetoprotein (AFP) in folgenden Anwendungsbereichen: a) Bestimmung im Serum als Verlaufs-kontrolle von Hodenkrebs; oder b) Bestimmung im mütterlichen Serum und im Fruchtwasser zwischen der 15. und 20. Schwangerschaftswoche zur Diagnostik eines offenen Neuralrohrdefektes in Verbindung mit Ultrasonographie oder Amniographie.

Artikelnummern: **L2KAP2** (200 Tests)  
**L2KAP6** (600 Tests)

Testcode: **AF** Farbe: **hellgrau**

Bedingt durch Unterschiede in der Epitoperfassung können mit den AFP-Tests verschiedener Hersteller in ein und derselben Probe unterschiedliche AFP-Werte gemessen werden. **Es wird empfohlen, auf dem Befund zusätzlich zum Messwert das verwendete Verfahren anzugeben. AFP-Werte, die mit verschiedenen Methoden bestimmt wurden, sind nicht austauschbar.** Vor einem Methodenwechsel muss das Labor (a) für die Verlaufskontrolle bei Krebspatienten die Basislinie neu bestimmen; (b) beim Pränatal-Screening Referenzbereiche für Seren und Fruchtwasser von Frauen mit normaler Schwangerschaft in Abhängigkeit von der bestätigten Schwangerschaftswoche erstellen.

## Klinische Relevanz

Alphafetoprotein (AFP) ist ein einkettiges Glykoprotein mit einem Molegewicht von 70 000 Dalton. AFP besitzt homologe Sequenzen mit Albumin. Es wird von fetalen Zellen der Leber, des Magen-Darmtrakts und des Dottersacks gebildet. AFP ist eines der Hauptproteine des Fetus, seine Konzentration fällt jedoch bis zur Geburt schnell ab.<sup>1,2,3</sup> Das erneute Auftreten erhöhter AFP-Konzentrationen im adulten Serum wird nicht nur während der Schwangerschaft sondern auch bei verschiedenen benignen und malignen Erkrankungen beobachtet.

### Hodenkrebs

Erhöhte AFP-Spiegel werden nicht nur bei Patienten mit nicht-seminomatösen Hodenkarzinomen, sondern auch bei Patienten mit anderen malignen Erkrankungen, wie hepatozellulärem Karzinom, Ovarialkarzinom, Magen-Darm- und Lungenkrebs beobachtet.<sup>8-15</sup> Das Serum-AFP ist auch bei benignen Lebererkrankungen (akute Virushepatitis, chronische aktive Hepatitis, Zirrhose) erhöht. Ebenso treten bei Schwangerschaft, Ataxia teleangiectatica und hereditärer Tyrosinämie erhöhte AFP-Werte auf.

Reine Semineome sind immer AFP-negativ. Erhöhte AFP-Spiegel findet man jedoch bei Patienten mit seminomatösem Hodenkarzinom, die nichtseminomatöse



A concentração de AFP em uma dada amostra determinada com doseamentos de diversos fabricantes pode variar devido a diferenças em métodos de doseamento e especificidade de reagente. Os resultados apresentados pelo laboratório ao médico devem incluir a identidade do doseamento utilizado. Valores obtidos com diferentes doseamentos de AFP não podem ser utilizados em permutação. Antes de mudar os ensaios, o laboratório deve: (a) para controlo do cancro — confirmar valores base para pacientes a serem monitorizados em série; (b) para análises pré-natais — estabelecimento de uma escala de variação de valores normais para o novo ensaio com base no soro e líquido amniótico de mulheres grávidas com uma idade gestacional confirmada.

## Sumário e explicação do teste

A alfa-fetoproteína (AFP) é uma glicoproteína de cadeia única com peso molecular próximo dos 70 000 daltons. A AFP partilha considerável homologia com a sequência da albumina, e é produzida prioritariamente pelo feto no saco yolk, no tracto gastrointestinal e no fígado. A AFP surge como a proteína mais abundante no soro do feto, mas a sua concentração decresce rapidamente até perto do nascimento<sup>1,2,3</sup>. O ressurgimento de valores elevados de AFP têm sido observados não só durante a gravidez, mas também em conjunto com muitas doenças benignas e malignas.

### Cancro dos testículos

Valores elevados de AFP têm sido referidos não só em pacientes com cancro testicular diferente de seminoma, mas também em pacientes com doenças malignas como carcinoma hepatocelular, cancro gastrointestinal e cancro pulmonar<sup>4,5,6,7,8,9,10</sup>. A concentração de AFP aumenta frequentemente em condições hepáticas benignas tais como hepatites virais agudas, hepatites crónicas activas e cirroses. Condições de gravidez, ataxia telangiectasia e tironosíndia também têm

sido apresentadas com elevadas concentrações de AFP<sup>3,15</sup>.

Os seminomas, na forma pura, não se apresentam com concentrações elevadas de AFP. No entanto, têm-se observado elevadas concentrações de AFP no soro de pacientes masculinos diagnosticados com seminoma e metástases com origem diferente de seminoma<sup>3,16,18,19</sup>. Durante a quimioterapia, pacientes com seminoma avançado e disfunção hepática também apresentam valores elevados de AFP no soro<sup>20</sup>. A interpretação de valores elevados de AFP em pacientes com seminoma requer consideração especial e deveria ajudar o médico na selecção da terapêutica apropriada<sup>3,15,21</sup>.

Doseamentos periódicos de AFP têm demonstrado eficácia no regime terapêutico de pacientes com tumores testiculares diferentes de seminoma<sup>3,15,17,26,27</sup>. Doseamentos de AFP após cirurgia são particularmente valiosos. A presença de tumor residual é fortemente sugerida se as concentrações de AFP após cirurgia não voltarem ao normal<sup>3,15,28,29</sup>. Uma interpretação exacta de alterações na concentração de AFP pós-operatória requer considerações sobre o decréscimo do metabolismo desta glicoproteína<sup>21,22,24,25</sup>. Quando se utiliza AFP para monitorização terapêutica ou recorrencia da doença durante quimioterapia, deve-se ter em conta que os níveis caem rapidamente durante a quimioterapia, alcançando valores normais enquanto as massas tumorais continuam evidentes<sup>17,21</sup>. Em tais circunstâncias, tem sido recomendado a continuação da terapêutica<sup>21</sup>.

Após terapêutica ou cirurgia, os doseamentos periódicos de AFP têm demonstrado utilidade clínica quando se pretende monitorizar a progressão ou recorrencia de doença em pacientes com cancro testicular diferente de seminoma. Tem sido apresentado em várias comunicações que os níveis de AFP aumentam frequentemente durante a progressão da doença e decaem durante a remissão desta<sup>3,17,18</sup>. Valores elevados de AFP têm sido frequentemente associados a recorrencias tumorais antes da doença progressiva ser clinicamente evidente<sup>3,16</sup>.

Valores sollten durch erneute Probenentnahme und -bestimmung verifiziert werden, um eine nur transiente AFP-Erhöhung auszuschließen.

Im allgemeinen wird die Ultrasonographie eingesetzt, um multiple Schwangerschaften auszu-schließen und um das Gestationsalter zu bestätigen. Mit Hilfe der Ultrasonographie können ebenfalls Zeichen für ein offenes Neuralrohrdefekt gefunden werden, v.a. die Anenzephalie, da es sich um eine große leicht zu erkennende Läsion handelt. Wenn die Korrektur des Gestationsalters oder die Berücksichtigung von Mehrlingsschwangerschaften nicht zu AFP-Konzentrationen innerhalb des Referenzbereiches führen, ist eine diagnostische Ultrasonographie und/oder eine Amniozentese indiziert. Im Falle eines positiven MSAFP-Befundes kann die höchste diagnostische Wertigkeit durch Kombination der biochemischen Analysen und der diagnostischen Ultrasonographie erzielt werden.<sup>35</sup>

Erhöhte MSAFP-Werte sind alleine keine Diagnose für einen offenen Neuralrohrdefekt und sollten daher nicht als Grund für einen Schwangerschaftsabbruch gesehen werden. Es existiert eine gemeinsame Schnittmenge für Schwangerschaften mit und ohne offenen Neuralrohrdefekt. Geschlossene Neuralrohrdefekte, zum Beispiel, sind in der Regel nicht mit erhöhten MSAFP und AFAFP Konzentrationen assoziiert. Daher sind weitere Untersuchungen notwendig, um den fötalen Status zu bestimmen. Im Lichte dieser Betrachtungen und den vielfältigen möglichen Ursachen für erhöhtes AFP sollten alle klinischen Informationen berücksichtigt und auch wenn möglich - Bestätigungstests durchgeführt werden, bevor eine Diagnose gestellt wird.

In Abhängigkeit von der gewünschten Sensitivität kann AFP mit verschiedenen immunologischen Methoden gemessen werden. Radiale Immundiffusion, Gegenstrom-Immunelektrophorese und Rocket-Immunelektrophorese sind gut geeignet für Forschungsanwendungen. Sowohl kompetitive als auch nicht-kompetitive Enzymimmunoassays und Radioimmunoassays werden in der Klinik zur Bestimmung des AFP im mütterlichem

Serum und in der Amnioflüssigkeit erfolgreich verwendet.

**Achtung:** Die IMMULITE 2000 AFP-Broschüre (Bestell-Nummer ZS1105) und Patienten-Broschüre (Bestell-Nummer ZS1106) zur Anwendung des AFP im pränatalem Screening zur Detektion des offenen Neuralrohrdefektes kann über Ihre Siemens Healthcare Diagnostics Niederlassung bezogen werden.

## Methodik

Der IMMULITE 2000 AFP ist ein Festphasen-, sequenzieller Zweischritt-Chemilumineszenz-, Immuno-Assay. Inkubationszyklen: 2 x 30 Minuten

## Probengewinnung

Serum: Die Proben sollten in einfachen Röhrchen durch Punktion der Vene<sup>31</sup> gewonnen und schnellstmöglich von den Zellen getrennt werden. Um eine valide Probe zu bekommen, sollte die Probenentnahme vor der Amniozentese stattfinden.

Der Einsatz einer Ultrazentrifuge wird zur Klärung von lipämischen Proben empfohlen.

Bei hämolytierten Proben besteht die Möglichkeit einer unsachgemäßen Handhabung vor Eintreffen im Labor, daher sind die Ergebnisse zurückhaltend zu interpretieren.

Iktterische oder grob kontaminierte Proben können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinneln führen. Um fehlerhaften Analyseergebnissen infolge von Gerinneln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter Antikoagulantien-therapie können eine verlängerte Gerinnungszeit aufweisen.

Blutentnahmeröhrchen von verschiedenen Herstellern können differierende Werte verursachen. Dies hängt von den verwendeten Materialien und Additiven (Gel oder physische Trennbarrieren, Gerinnungsaktivatoren und /oder Antikoagulantien) ab. IMMULITE 2000



**Bilirubina (non coniugata):** Sulla base della sua relazione con il dosaggio IMMULITE AFP, la bilirubina ha fatto registrare (con un t-test) un effetto minore, ma statisticamente significativo. (Vedere la tabella "Bilirubina" per lo studio dell'IMMULITE AFP.)

**Emolisi:** La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 192 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

**Lipemia:** La presenza di lipemia in concentrazioni fino a 3000 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

**Comparazione di Metodi – Studi su Cancro dei Testicoli:** La prova è stato paragonato all'IMMULITE AFP su un totale di 205 campioni prelevati da pazienti maschi in differenti fasi cliniche, pre e post chirurgiche, di cancro testicolare non seminomatoso. (Range di concentrazione: da 0,3 fino a 280 IU/mL) Con regressione lineare:

(IML 2000) = 1,04 (IML) + 0,34 IU/mL  
 $r = 0,998$   
 $n = 205$

95% Intervallo di Confidenza (CI)	Curva	Intercetta
Inferiore	1,03	-0,51
Superiore	1,05	1,20

**Comparazione di Metodi – Studi sui Difetti del Tubo Neurale:** In due

laboratori clinici separati negli Stati Uniti sono stati condotti studi sui risultati ottenuti con il dosaggio IMMULITE 2000 AFP comparati con quelli ottenuti da due dosaggi disponibili in commercio (Kit A e Kit B) in una regressione lineare per campioni di siero materno in un range da non rilevabili a 300 IU/mL.

(IML 2000) = 0,91 (Kit A) + 1,81 IU/mL  
 $r = 0,98$   
 $n = 346$

95% Intervallo di Confidenza (CI)	Curva	Intercetta
Inferiore	0,89	0,94
Superiore	0,93	2,68

(IML 2000) = 0,73 (Kit B) + 5,22 IU/mL  
 $r = 0,97$   
 $n = 1015$

95% Intervallo di Confidenza (CI)	Curva	Intercetta
Inferiore	0,72	4,66
Superiore	0,74	5,79

In uno degli studi di cui sopra, i risultati del dosaggio IMMULITE 2000 AFP sono stati comparati con il Kit B in uno studio di regressione lineare per campioni di liquido amniotico, nel range da non rilevabili a 286 kIU/mL\*.

(IML 2000) = 0,79 (Kit B) + 2,27 kIU/mL  
 $r = 0,99$   
 $n = 200$

95% Intervallo di Confidenza (CI)	Curva	Intercetta
Inferiore	0,77	1,78
Superiore	0,81	2,76

\* I campioni di liquido amniotico sono stati diluiti 1:101 fuori linea prima di essere dosati con l'IMMULITE 2000.

Il dosaggio è stato anche comparato al dosaggio IMMULITE su campioni di liquido amniotico nel range approssimativo da 3 a 20 kIU/mL\* (Vedi Grafico.) Attraverso regressione lineare:

(IML 2000) = 1,03 (IML) + 0,52 kIU/mL  
 $r = 0,96$   
 $n = 46$

Valore medio:  
 10,0 kIU/mL (IML)  
 10,8 kIU/mL (IML 2000)

95% Intervallo di Confidenza (CI)	Curva	Intercetta
Inferiore	0,93	-0,50
Superiore	1,12	1,54

\* I campioni di liquido amniotico sono stati diluiti 1:101 fuori linea prima di essere dosati con l'IMMULITE 2000.

Il dosaggio è stato anche comparato con il dosaggio IMMULITE AFP con campioni di siero materno, nel range da approssimativamente 10 a 120 IU/mL. Attraverso regressione lineare:

(IML 2000) = 1,01 (IML) + 0,154 IU/mL  
 $r = 0,962$   
 $n = 346$

Valore medio:  
 33,8 IU/mL (IML)  
 34,3 IU/mL (IML 2000)

**Im Lieferumfang enthalten**

Die Bestandteile sind aufeinander abgestimmt. Die Barcode-Aufkleber auf der Innenverpackung werden zur Testdurchführung gebraucht.

**AFP Kugel-Container (L2AP12)**

Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit monoklonalem AFP-Antikörper (Maus). Gekühlt (2–8°C) haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum.  
**L2KAP2:** 1 Container  
**L2KAP6:** 3 Container

**Behälter für AFP-Reagenzien (L2APA2)**

Mit Barcode. Ein Behälter mit 11,5 ml nicht-humane Puffer Serum-Matrix sowie und 11,5 ml alkalische Phosphatase (Kalb) konjugiert mit polyklonalem AFP-Antikörper (Kaninchen) in einer Pufferlösung. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.  
**L2KAP2:** 1 Behälter **L2KAP6:** 3 Behälter

Vor Gebrauch den Aufkleber an der Perforation abreißen, ohne dabei die Barcodierung zu beschädigen. Die Folie von der Oberseite des Containers entfernen. Den Schieberdeckel nach unten in die Führung des Reagenziendeckels einrasten lassen.

**AFP-Kalibratoren (L2APJ3, L2APJ4)**

Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) mit jeweils 2 ml AFP in einer Serum-Matrix (Rind). Nach dem Öffnen 30 Tage bei 2–8°C, sonst 6 Monate (aliquotiert) bei –20°C haltbar.  
**L2KAP2:** 1 Set **L2KAP6:** 2 Sets

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Röhren kleben, so daß die Barcodes vom Barcodereader des Systems gelesen werden können.

**Separat erhältliche Testsystem-Komponenten**

**Multidiluent 2 (L2MZZ, L2MZZ4)**

Zur automatischen Verdünnung von Serumproben hoher Konzentration und für Fruchtwasser-Proben. Eine Flasche mit einem gebrauchsfertigen Konzentrat aus einer nicht-humanen Protein/ Puffer-Matrix versetzt mit Konservierungsstoffen. Bis 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar

oder bis 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).

**L2MZZ:** 25 ml **L2MZZ4:** 55 ml

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16x100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.

**L2MZZ:** 3 Etiketten **L2MZZ4:** 5 Etiketten  
 Die Analyse von Fruchtwasser erfordert eine 1:100 Verdünnung der Probe (automatische Verdünnung mit dem Multi-Diluent 2).

**L2SUBM:** Chemilumineszenz-Substratmodul

**L2PWSM:** Waschmodul

**L2KPM:** Reinigungsmodul

**LRXT:** (Einweg-) Reaktionsgefäße

**LZZT:** 250 Teströhrchen (16 x 100 mm) für die Probenverdünnung

**LZZC:** 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

Ebenfalls benötigt werden Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser, Röhrchen; Kontrollen

**Testdurchführung**

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Verdünnung, Kalibration, Test- und Qualitätskontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme.

**Empfohlenes Kalibrationsintervall:**  
 4 Wochen

**Proben zur Qualitätskontrolle:** Jeweils gültige gesetzlichen Bestimmungen oder Akkreditierungsanforderungen sind bei der Festlegung der Intervalle zur Durchführung der Qualitätskontrollen zu berücksichtigen.

Kontrollen oder Poolseren mit AFP in mindestens zwei verschiedenen Konzentrationen (niedrige und hoch) verwenden.

Siemens Healthcare Diagnostics empfiehlt die Verwendung von kommerziell verfügbaren Qualitätskontrollen in mindestens 2 Konzentrationen (niedrig



IU/ml:	< 5	5-15	15-100	> 100
<b>Uomini</b>				
Uomini sani (119)	118	1	—	—
Cancro Seminomatoso dei Testicoli (6)	6	—	—	—
Cancro non Seminomatoso dei Testicoli (60)	14	8	15	23
Cancro del Fegato (10)	3	—	2	5
Altre Patologie Maligne (40)	36	1	—	3
Cirrosi (4)	3	1	—	—

Epatiche (24)	19	4	1	—
Altre Patologie Non Maligne (6)	5	—	—	1
<b>Donne</b>				
Donne sane (29)	29	—	—	—
Patologie Maligne (20)	18	—	1	1
Patologie Non Maligne (16)	15	—	1	—

Detti valori dovrebbero essere considerati solo come *suggerimento*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

Per pazienti con cancro testicolare non seminomatoso si prevede di avere una distribuzione di valori AFP compresi e al di fuori del range di riferimento per adulti maschi in apparente buona salute. In forma pura, i seminomi non presentano livelli elevati di AFP nel siero, tuttavia, si sono osservati livelli elevati di AFP in pazienti con seminoma accompagnati da metastasi di cancro testicolare non seminomatoso.<sup>8</sup>

Un aumento notevole dei livelli di AFP in pazienti non affetti da tumori metastatici potrebbe indicare uno sviluppo di metastasi. Livelli elevati che appaiono dopo un intervento chirurgico potrebbero indicare una non completa asportazione del tumore o la presenza di metastasi.

Livelli elevati di AFP nel siero sono associati a malattie benigne del fegato quali epatite e cirrosi. La maggior parte (95%) dei pazienti colpiti da tali malattie presentano livelli di AFP inferiori a 200 ng/mL (165 IU/mL).<sup>8-15</sup>

**Valori di AFP nel Siero Materno e nel Liquido Amniotico**

A causa di variazioni potenziali nei test effettuati da laboratori differenti, si consiglia ad ogni laboratorio di determinare il proprio set di valori medi per le settimane gestazionali dalla 15<sup>a</sup> alla 20<sup>a</sup> testati nella popolazione su cui effettuare lo screening. I valori di cutoff comunemente utilizzano multipli delle mediane (MoM) di 2,0, 2,5, e 3,0 per il dosaggio del siero materno e del liquido amniotico. Ogni risultato dei test sull'AFP deve essere espresso come multiplo dei valori medi della popolazione sana. Ciò si ottiene dividendo il valore di AFP per il valore medio in base alle settimane gestazionali. Con settimane gestazionali si intendono settimane complete; ad es.: 16 settimane, 6 giorni verrebbero considerati parte della 16 settimana. Si consiglia che i valori medi MoM determinati per ogni settimana gestazionale si basino su almeno 100 sieri materni e 50 campioni di fluido amniotico da gravidanze singole di feti sani con età gestazionale confermata. Di seguito vengono forniti i valori medi per i campioni di siero materno calcolati attraverso una regressione del peso linear-log da dati raccolti da gravidanze di feti singoli sani in 3 centri clinici negli Stati Uniti.

Sett. Di Gestazione	No. di campioni	Multipli delle Mediane Regresse (IU/mL)			
		Mediane IU/mL*	2.0	2.5	3.0
15	370	24,9	49,8	62,3	74,7
16	605	28,5	57,0	71,3	85,5
17	569	32,6	65,2	81,5	97,8
18	431	37,2	74,4	93,0	111,6
19	221	42,5	85,0	106,3	127,5
20	91	48,6	97,2	121,5	145,8

\*Valori Regressi  
Di seguito vengono forniti i valori medi per i campioni di fluido amniotico calcolati attraverso una regressione del peso linear-log da dati raccolti da gravidanze di feti singoli sani in 2 centri clinici negli Stati Uniti.

vorhandene Metastasen verursacht sein. Ursache erhöhte AFP-Serumspiegel können auch gutartige Lebererkrankungen wie Hepatitis oder Leberzirrhose sein. Bei den meisten (etwa 95 Prozent) der Patienten mit diesen gutartigen Erkrankungen der Leber wurden AFP-Spiegel unter 200 ng/ml, entsprechend 165 IU/ml beschrieben.<sup>8-15</sup>

**AFP Werte für mütterliche Seren und Fruchtwasser**

Bedingt durch mögliche Variationen bei der Durchführung in verschiedenen Labors ist es empfehlenswert, dass jedes Labor seine eigenen AFP Medianwerte für die 15. bis 20. Schwangerschaftswoche auf Basis der zu testenden Population ermittelt. Zur Berechnung der cut-off Werte für Tests mit mütterlichen Seren und Fruchtwasser werden üblicherweise Vielfache des Medians (MoM) von 2,0 oder 2,5 verwendet. Jedes AFP Ergebnis kann dann auch als ein Vielfaches des Medianwertes der nicht betroffenen Bevölkerung dargestellt werden. Dies erhält man, wenn der AFP-Wert durch den Medianwert der korrespondierende Gestationswoche dividiert wird. Die Angabe Schwangerschaftswoche definiert sich als die abgeschlossene Schwangerschaftswoche; z. B. werden die 16. Woche und 6 Tage noch als die 16. Woche angesehen. Es empfiehlt sich, Median- und MoM-Werte für jede Schwangerschaftswoche auf der Basis von mindestens 100 mütterlichen Seren und 50 Fruchtwasser-Proben von einzelnen, nicht betroffenen Schwangeren mit nachgewiesenen Gestationsalter zu bestimmen.

In der nachfolgenden Tabelle werden Mediane von *mütterlichen Seren* dargestellt, die mit einer gewichteten Log-Linearregression von Daten einzelner, nicht betroffener Schwangeren an drei klinischen Stellen in den USA erstellt wurden.

Gestations-woche	Proben-Nr.	Vielfaches des Medians* (IU/ml)			
		Median IU/ml*	2.0	2.5	3.0
15	370	24,9	49,8	62,3	74,7
16	605	28,5	57,0	71,3	85,5
17	569	32,6	65,2	81,5	97,8
18	431	37,2	74,4	93,0	111,6
19	221	42,5	85,0	106,3	127,5
20	91	48,6	97,2	121,5	145,8

\* Log-Linearregression  
In der nachfolgenden Tabelle werden Mediane von *Fruchtwasser-Proben* abgebildet, die mit einer gewichteten Log-Linearregression von Daten einzelner, nicht betroffener Schwangeren an zwei klinischen Stellen in den USA erstellt wurden.

Gestations-woche	Proben-Nr.	Vielfaches des Medians* (kIU/ml)			
		Median kIU/ml*	2.0	2.5	3.0
15	76	13,0	26,0	32,5	39,0
16	89	10,7	21,4	26,8	32,1
17	53	8,73	17,5	21,8	26,2
18	54	7,14	14,3	17,9	21,4
19	46	5,84	11,7	14,6	17,5
20	23	4,78	9,56	12,0	14,3

\* Log-Linearregression

**Grenzen der Methode**

**Diagnose:** Da erhöhte AFP-Spiegel außer bei nicht-seminomatösen Hodenkarzinomen auch bei anderen malignen Erkrankungen auftreten können, ist die alleinige Bestimmung des AFP zur Differentialdiagnose des nicht-seminomatösen Hodenkarzinoms nicht geeignet.

**Screening:** Der Nachweis von AFP eignet sich nicht als Screeningmethode im Rahmen von Krebs-Vorsorgeuntersuchung der Allgemeinbevölkerung. Erhöhte Serunkonzentrationen von AFP finden sich nicht nur bei Patienten mit nicht-seminomatösen Hodentumoren, sondern auch bei anderen malignen Prozessen, wie Leberzell-Karzinomen, Ovarialkarzinomen, und bei Gastrointestinal- und Lungenkarzinomen. Auch gutartige Erkrankungen der Leber, beispielsweise Virus-Hepatitis, chronisch akute Hepatitis (CAH) und Leberzirrhose können mit erhöhten AFP-Spiegeln



dal liquido amniotico attraverso centrifugazione.

**Tempi:** è essenziale sapere l'età gestazionale per valutare i risultati dell'AFP. Il momento consigliato per il prelievo va dalla 16<sup>a</sup> alla 18<sup>a</sup> settimana per il siero, dalla 16<sup>a</sup> alla 20<sup>a</sup> settimana per il liquido amniotico. I campioni di siero devono essere prelevati prima dell'annocentesi poiché questa procedura può portare a livelli di siero materno spuriamente elevati che persistono per 2-3 settimane.

#### Volume Richiesto

**Siero:** 10 µL di siero

**Liquido Amniotico:** 10 µL di un campione prefiltrato di liquido amniotico

#### Fattore di Diluizione per il Liquido Amniotico: 100

Tutti i campioni di liquido amniotico devono prima essere diluiti 1:101 utilizzando il Diluente interno Multi-Diluente 2 prima di essere dosati. Selezionare 100 nella finestra del Fattore di Diluizione.

#### Conservazione

**Siero:** 3 giorni a 2-8°C o congelare il campione a -20°C, se non dosato entro 3 giorni.

**Liquido Amniotico:** I campioni di liquido amniotico devono essere conservati a -20°C. Aliquotare se necessario per evitare cicli ripetuti di congelamento e scongelamento. Consentire al campione di raggiungere temperatura ambiente (15-28°C) prima del dosaggio e mescolare delicatamente o capovolgere la provetta. Non cercare di congelare i campioni riscaldandoli in un bagnetto termostatico. Se occorre spedire i campioni, gli stessi devono viaggiare in ghiaccio secco se il viaggio dura più di 72 ore, o se le temperature elevate sono un problema, come accade nei climi caldi o durante l'estate. Se sono necessarie analisi ulteriori occorre prendere in considerazione il campione originario per poter garantire l'attendibilità dei risultati.

#### Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

**Reagenti:** Conservare a 2-8°C. Scartare in conformità alle leggi applicabili.

Seguire le precauzioni universali, e maneggiare tutti i componenti come se fossero capaci di trasmettere agenti infettivi. Sono stati analizzati i materiali di sorgente dal sangue umano e sono stati trovati non reattivi per sifilide; per anticorpi ad HIV 1 e 2; per l'antigeno superficiale dell'epatite B; e per anticorpi all'epatite C.

E' stata aggiunta Sodio Azide a concentrazioni inferiori a 0,1 g/dL come conservante. Al momento dell'eliminazione, irrorare con molta acqua per evitare la formazione di azidi metalliche potenzialmente esplosive nelle tubature di piombo e di rame.

**Sottostrato chemiluminescente:** Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce del sole diretta (vedere l'inserimento).

**Acqua:** Utilizzare solo acqua distillata o deionizzata.

#### Materiali Forniti

I componenti costituiscono un unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

#### Contenitore di Sferette AFP (L2AP12)

Con codice a barre. 200 sferette coattate con un anticorpo monoclonale murino anti-AFP. Stabile a 2-8°C fino alla data di scadenza.

**L2KAP2:** 1 confezione

**L2KAP6:** 3 confezioni

#### Porta Reagente AFP (L2APAZ2)

Con codice a barre. 11,5 mL di un tampone proteico in una matrice di siero non umano; e 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con un anticorpo policlonale di coniglio anti-AFP, in un tampone. Stabile a 2-8°C fino alla data di scadenza.

**L2KAP2:** 1 Porta Reagente

**L2KAP6:** 3 Porta Reagenti

Prima dell'utilizzo rimuovere la parte superiore dell'etichetta lungo la perforazione senza danneggiare il codice a barre. Togliere il foglio protettivo dalla parte superiore del flacone. Far scattare nella corretta posizione il coperchio scorrevole lungo le guide del coperchio del reagente.

#### Metodovergleich - Studie mit Neuralrohrdefekten

Studien in den USA wurden die Ergebnisse des IMMULITE 2000 AFP Assays mit zwei auf dem Markt zugelassenen Assays (Kit A und Kit B) für mütterliche Seren verglichen. (Konzentrationsbereich: nicht nachweisbar bis 300 IU/ml.) Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 0,91 (Kit A) + 1,81 IU/ml  
r = 0,98  
n = 346

95%		
Vertrauensbereich	Slope	Intercept
niedrigster Wert	0,89	0,94
höchster Wert	0,93	2,88

(IML 2000) = 0,73 (Kit B) + 5,22 IU/ml  
r = 0,97  
n = 1015

95%		
Vertrauensbereich	Slope	Intercept
niedrigster Wert	0,72	4,86
höchster Wert	0,74	5,79

#### 95%

Vertrauensbereich	Slope	Intercept
niedrigster Wert	0,93	-0,50
höchster Wert	1,12	1,54

\* die Fruchtwasser-Proben wurden automatisch 1:100 durch das IMMULITE 2000 Instrument verdünnt.

Der Assay wurde auch für mütterliche Seren im Konzentrationsbereich von etwa 10 bis 120 IU/ml mit dem IMMULITE AFP Assay verglichen. Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 1,01 (IML) + 0,154 IU/ml  
r = 0,982  
n = 346

#### Mittelwerte:

33,8 IU/ml (IML)  
34,3 IU/ml (IML 2000)

#### 95%

95%		
Vertrauensbereich	Slope	Intercept
niedrigster Wert	0,99	-0,60
höchster Wert	1,03	0,91

#### Klinische Sensitivität für mütterliche Seren,

n = 9:

Gestations-woche	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15-20	100%	77,8%	66,7%
95% CI* für alle Proben	66,4%-100%	40,0%-97,2%	29,9%-92,5%

\* Vertrauensbereich

#### Klinische Spezifität für mütterliche Seren

n = 200

Gestations-woche	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM	
15	276	94,2%	97,5%	98,6%
16	304	96,1%	99,0%	99,7%
17	272	97,1%	99,3%	99,6%
18	287	95,8%	98,6%	99,3%
19	152	93,4%	98,0%	99,3%
20	41	95,1%	100%	100%
15-20	1332	95,5%	98,6%	99,3%
95% CI* für alle Proben	94,2%-96,5%	97,8%-99,1%	98,7%-99,7%	

\* Vertrauensbereich



<p>l'intervento.<sup>9,15,28,29</sup> Nell'interpretazione delle concentrazioni post-operatorie è importante valutare la velocità della diminuzione dei valori.<sup>21,22,24,25</sup> Quando viene utilizzata l'AFP per monitorare la terapia o per diagnosticare un'eventuale recidiva, occorre notare che spesso i livelli decadono rapidamente durante la chemioterapia, fino a raggiungere livelli normali, mentre le masse tumorali sono ancora evidenti.<sup>17,21</sup> In tali circostanze, si consiglia il completamento della terapia pianificata.<sup>21</sup></p> <p>Dopo terapia o intervento chirurgico in pazienti con carcinoma testicolare nonseminomatoso, misurazioni seriali di AFP si sono dimostrate clinicamente utili per diagnosticare eventuali recidive o progressioni della malattia. E' stato riscontrato che i livelli di AFP si innalzano frequentemente durante la progressione della malattia, e si abbassano durante la remissione.<sup>9,17,18</sup> Livelli elevati di AFP sono stati spesso osservati in associazione alla recidiva tumorale prima ancora che la malattia fosse clinicamente evidente.<sup>9,18</sup></p>	<p>Aperto presentano livelli elevati di AFP. L'AFP in eccesso fluisce nel liquido amniotico ed in maniera minore nel siero materno attraverso traspirazione della superficie del feto esposta o attraverso i glomeruli danneggiati.<sup>35,37</sup> Queste condizioni vengono riscontrate nei Difetti del Tubo Neurale Aperto inclusa la Spina Bifida e l'Anencefalia, l'Omalocele e la Nefrosi Congenita.<sup>35,39</sup> Altre cause di concentrazioni elevate di AFP include sorgenti materne e fetali sono cause di aborto spontaneo, problemi fetali o morte del feto, Oligoidrammios, Tossitemia, Gastroschisi, Sindrome di Meckel, Teratoma Sacrococcigeo, Sindrome di Turner, e disturbi epatici ed oncologici della madre.<sup>35</sup></p>	<p>sino también en pacientes con otras patologías tumorales como carcinoma hepatocelular, cáncer de ovario, cáncer gastrointestinal y cáncer de pulmón.<sup>6-15</sup> La AFP sérica está normalmente elevada en procesos inflamatorios hepáticos benignos, tales como hepatitis viral aguda, hepatitis crónica activa y cirrosis hepática. En el embarazo, ataxia telangiectásica y tirosinemia también pueden encontrarse concentraciones elevadas de AFP.<sup>6,15</sup></p> <p>Los pacientes con seminomas, como única patología, no presentan altas concentraciones de AFP. Sin embargo, si han sido observadas elevadas concentraciones de AFP en pacientes con cáncer testicular seminomatoso acompañado de metástasis no seminomatosas.<sup>9,16,18,19</sup> Durante la quimioterapia, los pacientes con seminomas en estadios avanzados y con disfunción hepática también presentan elevada la AFP en suero.<sup>20</sup> Por lo dicho, la interpretación de concentraciones elevadas de AFP en pacientes con seminomas, requiere un especial estudio clínico para la elección de la terapia mas adecuada.<sup>9,15,21</sup></p>	<p>Sono stati pubblicati i protocolli consigliati per lo screening dei Difetti del Tubo Neurale Aperto.<sup>33,35</sup> I livelli di cutoff nel siero materno e nel fluido amniotico possono essere scelti per ottimizzare le necessità della popolazione sottoposta a test e basati sulla prevalenza variabile dei Difetti del Tubo Neurale Aperto. I cutoff usano comunemente i multipli della mediana di 0,2 o 2,5 per il test dell'MSAFP e dell'AFP. Il momento ottimale per l'effettuazione dello screening dell'MSAFP è tra la 16<sup>a</sup> e la 18<sup>a</sup> settimana di gravidanza, benché lo screening continui ad essere efficace prima o dopo questo periodo. Concentrazioni elevate di AFP possono essere soggette a prelievi ed analisi ripetuti per escludere innalzamenti momentanei del livello.</p> <p>Più comunemente, viene utilizzata l'ecografia per determinare gravidanze multiple e confermare l'età gestazionale. L'ecografia può anche identificare i segni di Difetti del Tubo Neurale Aperto, in modo particolare l'Anencefalia, che costituisce una lesione vasta e facile da identificare. Se la correzione dell'età gestazionale o di gravidanze multiple non corrisponde ad una concentrazione di AFP entro il range di normalità, allora si consiglia l'effettuazione di un'ecografia e/o di un prelievo di liquido amniotico. La maggior efficacia diagnostica può essere ottenuta combinando l'analisi biochimica del liquido amniotico e l'ecografia diagnostica in casi di screening MSAFP positivo.<sup>35</sup></p> <p>Risultati elevati di MSAFP non sono diagnostici per i Difetti del Tubo Neurale e non devono essere considerati un</p>	<p>tumoral es aun evidente.<sup>17,21</sup> En cuyo caso es recomendable continuar con plan terapéutico.<sup>21</sup></p> <p>En pacientes en tratamiento o sometidos a cirugía, las determinaciones de AFP a lo largo del tiempo son de gran utilidad clínica en el seguimiento de la progresión o recurrencia del cáncer testicular no seminomatoso. Se ha demostrado, que frecuentemente los niveles de AFP se incrementan con la progresión de la enfermedad y caen en la remisión de la misma.<sup>9,17,18</sup> Elevados niveles de AFP han sido observados frecuentemente en tumores recurrentes antes de que la progresión de la enfermedad sea clinicamente evidente.<sup>9,18</sup></p>
<p><b>Defectos del tubo neural fetal abierto</b></p> <p>La AFP es detectable no sólo en el suero fetal, sino también en el líquido amniótico y el suero materno. Existe un gradiente de concentración tal que cuando el nivel de la AFP en el suero fetal es de 2000 kIU/ml, el nivel de la AFP en el líquido amniótico (AFAP) es de 20 kIU/ml y en el suero materno (MSAFP) de 0,02 kIU/ml. En el embarazo normal, la concentración de AFP en el suero fetal es máxima a las 14 semanas de gestación.<sup>34</sup> La concentración de AFAP es máxima aproximadamente a las 12 semanas de gestación, mientras que la concentración de MSAFP es máxima aproximadamente a las 28-32 semanas de gestación.<sup>36</sup> La caída en la concentración de AFAP refleja la caída en la concentración de AFP en el suero fetal, la cual resulta del incremento en el tamaño fetal y el aumento del líquido amniótico.<sup>34</sup> El AFAP puede ocurrir más frecuentemente como consecuencia de un embarazo múltiple y de que la edad gestacional es incorrecta.</p> <p>La medición de las concentraciones de AFP es clinicamente valiosa para detectar defectos del tubo neural fetal abierto y otras anomalías fetales<sup>35</sup>; embarazos asociados con defectos del tubo neural fetal abierto con niveles elevados de AFP. El exceso de AFP entra al líquido amniótico y, en menor grado, al suero materno, por trasudación a través de la superficie expuesta del feto o de los glómulos dañados.<sup>35,37</sup> Estas condiciones se encuentran en los</p>	<p>La utilidad clínica de las determinaciones de AFP, están bien documentadas, en el seguimiento de pacientes con cáncer testicular no seminomatoso.<sup>9,16,17,18,22</sup> La determinación de AFP tiene una importante aplicación clínica para evaluar la extensión de la enfermedad.<sup>16,22,26</sup></p> <p>La valoración a lo largo del tiempo de AFP en suero ha demostrado su gran eficacia para la elección de la terapia en pacientes con tumores testiculares no seminomatosos.<sup>9,15,17,20,27</sup> Son particularmente de gran valor las determinaciones post-quirúrgicas de AFP. La presencia de tumor residual después de la cirugía se pone de manifiesto, si después de descender, vuelven a subir los niveles de AFP.<sup>9,15,28,29</sup> Los cambios post-quirúrgicos de AFP requieren una precisa interpretación, a fin de considerar el ritmo al que decrece su metabolismo.<sup>21,22,24,25</sup> Cuando es utilizada la AFP para el seguimiento de la terapia o la recurrencia de la enfermedad durante la quimioterapia, puede observarse como suelen caer rápidamente los niveles en el transcurso de la quimioterapia, permaneciendo normal su nivel si la masa</p>	<p><b>Defetti del Tubo Neurale Aperto nel Feto</b></p> <p>L'AFP è rilevabile non solo nel siero fetale, ma anche nel liquido amniotico e nel siero materno. Esiste un gradiente di concentrazione tale per cui quando il livello di AFP nel siero fetale è 2000 kIU/mL, il livello di AFP nel liquido amniotico (AFAP) è 20 kIU/mL e l'AFP nel siero materno (MSAFP) è 0,02 kIU/mL. In gravidanze normali la concentrazione di AFP nel siero fetale raggiunge un picco a 14 settimane di gestazione.<sup>34</sup> La concentrazione di AFAP raggiunge un picco intorno alla 12<sup>a</sup> settimana e la MSAFP raggiunge un picco intorno alla 28<sup>a</sup>-32<sup>a</sup> settimana di gravidanza.<sup>36</sup> La caduta delle concentrazioni di AFAP riflette la caduta delle concentrazioni di AFP nel siero fetale quale conseguenza delle accresciute dimensioni fetali e di un aumento nel volume del liquido.<sup>34</sup> Livelli elevati di MSAFP e di AFAP possono verificarsi spesso in seguito a gravidanze multiple e ad età gestazionale non corretta.</p> <p>La misurazione delle concentrazioni di AFP è clinicamente valida nello screening dei Difetti del Tubo Neurale Aperto e di altre anomalie fetali.<sup>35</sup> Gravidanze associate a Difetti del Tubo Neurale</p>	<p>Defectos del tubo neural fetal abierto</p> <p>La AFP es detectable no sólo en el suero fetal, sino también en el líquido amniótico y el suero materno. Existe un gradiente de concentración tal que cuando el nivel de la AFP en el suero fetal es de 2000 kIU/ml, el nivel de la AFP en el líquido amniótico (AFAP) es de 20 kIU/ml y en el suero materno (MSAFP) de 0,02 kIU/ml. En el embarazo normal, la concentración de AFP en el suero fetal es máxima a las 14 semanas de gestación.<sup>34</sup> La concentración de AFAP es máxima aproximadamente a las 12 semanas de gestación, mientras que la concentración de MSAFP es máxima aproximadamente a las 28-32 semanas de gestación.<sup>36</sup> La caída en la concentración de AFAP refleja la caída en la concentración de AFP en el suero fetal, la cual resulta del incremento en el tamaño fetal y el aumento del líquido amniótico.<sup>34</sup> El AFAP puede ocurrir más frecuentemente como consecuencia de un embarazo múltiple y de que la edad gestacional es incorrecta.</p> <p>La medición de las concentraciones de AFP es clinicamente valiosa para detectar defectos del tubo neural fetal abierto y otras anomalías fetales<sup>35</sup>; embarazos asociados con defectos del tubo neural fetal abierto con niveles elevados de AFP. El exceso de AFP entra al líquido amniótico y, en menor grado, al suero materno, por trasudación a través de la superficie expuesta del feto o de los glómulos dañados.<sup>35,37</sup> Estas condiciones se encuentran en los</p>	<p>Defetti del Tubo Neurale Aperto nel Feto</p> <p>L'AFP è rilevabile non solo nel siero fetale, ma anche nel liquido amniotico e nel siero materno. Esiste un gradiente di concentrazione tale per cui quando il livello di AFP nel siero fetale è 2000 kIU/mL, il livello di AFP nel liquido amniotico (AFAP) è 20 kIU/mL e l'AFP nel siero materno (MSAFP) è 0,02 kIU/mL. In gravidanze normali la concentrazione di AFP nel siero fetale raggiunge un picco a 14 settimane di gestazione.<sup>34</sup> La concentrazione di AFAP raggiunge un picco intorno alla 12<sup>a</sup> settimana e la MSAFP raggiunge un picco intorno alla 28<sup>a</sup>-32<sup>a</sup> settimana di gravidanza.<sup>36</sup> La caduta delle concentrazioni di AFAP riflette la caduta delle concentrazioni di AFP nel siero fetale quale conseguenza delle accresciute dimensioni fetali e di un aumento nel volume del liquido.<sup>34</sup> Livelli elevati di MSAFP e di AFAP possono verificarsi spesso in seguito a gravidanze multiple e ad età gestazionale non corretta.</p> <p>La misurazione delle concentrazioni di AFP è clinicamente valida nello screening dei Difetti del Tubo Neurale Aperto e di altre anomalie fetali.<sup>35</sup> Gravidanze associate a Difetti del Tubo Neurale</p>



Le dosage a également été comparé à IMMULITE AFP sur des échantillons de liquide amniotique, dans la gamme d'environ 3 à 20 kU/ml.\* (Voir le graphique.) Par régression linéaire: (IML 2000) = 1,03 (IML) + 0,52 kU/ml  
r = 0,96  
n = 46

Moyennes :  
10,0 kU/ml (IML)  
10,8 kU/ml (IML 2000)

95% de l'intervalle de confiance (IC)	Pente	Interception
Inférieur	0,93	-0,50
Haut	1,12	1,54

\* Les échantillons de liquide amniotique ont été dilués automatiquement au 1:101 par IMMULITE 2000.

Le dosage a également été comparé à IMMULITE AFP sur des échantillons de sérum maternel, dans la gamme d'environ 10 à 120 U/ml. Par régression linéaire: (IML 2000) = 1,01 (IML) + 0,154 U/ml  
r = 0,982  
n = 346

Moyennes :  
33,8 U/ml (IML)  
34,3 U/ml (IML 2000)

95% de l'intervalle de confiance (IC)	Pente	Interception
Inférieur	0,99	-0,60
Haut	1,03	0,91

### Sensibilité clinique pour le sérum maternel, n = 9 :

Semaine de gestation	% >	% >	% >
15-20	100%	77,8%	66,7%
95% de l'IC pour tous les échantillons	66,4%-100%	40,0%-97,2%	29,9%-92,5%

### Spécificité clinique pour le sérum maternel :

Semaine de gestation	n	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	276	94,2%	97,5%	98,6%
16	304	96,1%	99,0%	99,7%
17	272	97,1%	99,3%	99,6%
18	287	95,8%	98,6%	99,3%
19	152	93,4%	98,0%	99,3%
20	41	95,1%	100%	100%
15-20	1332	95,5%	98,6%	99,3%
95% de l'IC pour tous les échantillons		94,2%-96,5%	97,8%-99,1%	98,7%-99,7%

### Sensibilité clinique pour le liquide amniotique, n = 8 :

Semaine de gestation	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15-20	87,5%	87,5%	87,5%
95% de l'IC pour tous les échantillons	47,3%-99,7%	47,3%-99,7%	47,3%-99,7%

### Spécificité clinique pour le liquide amniotique :

Semaine de gestation	n	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	53	100%	100%	100%
16	50	98,0%	100%	100%
17	28	100%	100%	100%
18	20	100%	100%	100%
19	13	92,3%	100%	100%
20	10	100%	100%	100%
15-20	174	98,9%	100%	100%
95% de l'IC pour tous les échantillons		95,9%-99,9%	97,9%-100%	97,9%-100%

### Assistance technique

Contactez votre distributeur national.  
[www.siemens.com/diagnostics](http://www.siemens.com/diagnostics)

Le Système Qualité de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. est certifié ISO 13485:2003.

Les muestras hemolizadas podrian indicar una mala manipulacion de la muestra antes de ser recibida por el laboratorio; en este caso, los resultados deben interpretarse con precaucion.

Las muestras ictericas o ampliamente contaminadas pueden dar resultados erroneos.

La centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras.

Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras fisicas, activadores de la coagulacion y/o anticoagulantes. El AFP IMMULITE 2000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos.

**Líquido amniótico:** El líquido amniótico deberá obtenerse por amniocentesis en tubos simples. Las muestras deberán obtenerse por una amniocentesis transabdominal aséptica, realizada por un obstetra con experiencia en esta técnica, durante el segundo trimestre del embarazo en las mujeres cuya edad gestacional está confirmada. Centrifugar las muestras, reteniendo una parte del sobrenadante transparente. Buscar signos de sangre o hemoglobina tanto en el sobrenadante como en el sedimento, ya que la contaminación con incluso cantidades infinitesimales de material fetal elevará la concentración aparente de AFP de la muestra, haciéndola inadecuada para su análisis. El origen del material fetal deberá determinarse mediante un análisis para hemoglobina fetal. Si ha habido contaminación fetal y la concentración de AFP es elevada, deberá obtenerse una muestra adicional para su evaluación 7 a 10 días después. La contaminación del líquido amniótico con el suero materno puede reflejar niveles de AFP precisos siempre que el grado de contaminación no sea suficiente para diluir

la muestra. De aquí en adelante, en las indicaciones incluidas en este paquete, *líquido amniótico* se refiere al sobrenadante transparente obtenido de la centrifugación del líquido amniótico.

**Determinación cronológica:** Para evaluar los resultados AFP, es esencial conocer la edad gestacional. El momento recomendado para la toma de las muestras es entre la 16ª y la 18ª semana gestacional para el suero y entre la 16ª y la 20ª semana gestacional para el líquido amniótico. Las muestras de suero deben recogerse antes de realizar la amniocentesis, ya que este procedimiento puede hacer que niveles de suero materno falsamente elevados persistan durante 2 a 3 semanas.

### Volumen requerido

**Suero:** 10 µl

**Líquido amniótico:** 10 µl de muestra de líquido amniótico prediluido

### Factor de dilución del líquido amniótico: 100

Todas las muestras de líquido amniótico deben primero diluirse 1 en 101 usando el Multidiluyente 2 en el equipo antes de ser analizadas. Seleccionar el valor 100 en la ventana del Factor de Dilución.

### Conservación

**Suero:** 3 días a 2-8°C, o congelar a -20°C si no se prueba dentro de los 3 días.

**Líquido amniótico:** Las muestras de líquido amniótico deberán guardarse a -20°C. Las muestras deben fraccionarse si es necesario, para evitar el congelamiento y descongelamiento repetido. Permitir que la muestra llegue a temperatura ambiente (15-28°C) antes del ensayo y mezclar con movimientos giratorios suaves o por inversión. No intente descongelar las muestras calentándolas en un baño de agua. Si es necesario enviar las muestras por correo, estas deberán embalarse en hielo seco si el tiempo de transporte excederá las 72 horas o si pudieran exponerse a temperaturas elevadas como en los climas cálidos o durante el verano. Si es necesario repetir el análisis, se deberá tomar el tipo de muestra original para mantener la coherencia de los resultados.



Semaine de gestation	Nombre de spécimens	Médianes U/ml*		Multiples de médianes par régression (U/ml)	
		U/ml*	U/ml*	2.0	2.5
15	370	24,9	49,8	62,3	74,7
16	605	28,5	57,0	71,3	85,5
17	569	32,6	65,2	81,5	97,8
18	431	37,2	74,4	93,0	111,6
19	221	42,5	85,0	106,3	127,5
20	91	48,6	97,2	121,5	145,8

\*Par régression

Les valeurs ci-dessous sont les médianes pour les échantillons de *liquide amniotique* calculées par régression log-linéaire pondérée à partir de données émanant de grossesses uniques non affectées étudiées sur deux sites cliniques aux Etats-Unis :

Semaine de gestation	Nombre de spécimens	Médianes kU/ml*		Multiples de médianes par régression (kU/ml)	
		kU/ml*	kU/ml*	2.0	2.5
15	76	13,0	26,0	32,5	39,0
16	89	10,7	21,4	26,8	32,1
17	53	8,73	17,5	21,8	26,2
18	54	7,14	14,3	17,9	21,4
19	46	5,84	11,7	14,6	17,5
20	23	4,78	9,56	12,0	14,3

\*Par régression

## Limites

**Diagnostic :** Du fait que les concentrations d'AFP sérique peuvent être augmentées dans d'autres cas que les cancers testiculaires non séminomateux, le dosage de l'AFP ne peut pas être utilisé comme test diagnostic des cancers testiculaires non séminomateux.

**Dépistage :** De même, le dosage de l'AFP ne peut pas être prescrit comme test de dépistage d'un cancer dans une population normale. Des concentrations élevées d'AFP ont été observées non seulement chez des patients atteints de cancers testiculaires non séminomateux mais aussi dans d'autres états malins, tels que des carcinomes hépato-cellulaires, des cancers ovariens, gastro-intestinaux ou pulmonaires. Des pathologies hépatiques bénignes tels que des hépatites virales aiguës, des hépatites chroniques actives et des cirrhoses peuvent également entraîner une

élévation du taux sérique d'AFP. Des concentrations élevées d'AFP ont aussi été décrites durant la grossesse dans les ataxies télangiectasies et les tyrosinémies héréditaires.

**Essai prénatal : une évaluation fiable des taux d'alpha-fœtoprotéine pour l'essai prénatal requiert l'établissement de l'âge précis de gestation. La sous-estimation de l'âge de gestation peut entraîner des résultats positifs erronés tandis que sa surestimation peut entraîner des résultats négatifs erronés. En cas d'incertitude quant à l'âge de gestation, il est conseillé de recourir à l'échographie.**

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec les immunodosages *in vitro*. [Voir Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34:27-33.] Les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre des sérums rares et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

## Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en U/ml. Sauf stipulation contraire, toutes les valeurs ont été établies à partir d'échantillons sériques prélevés sur des patients atteints d'un cancer testiculaire.

### Facteur de conversion :

U/ml x 1,21 → ng/ml

**Intervalle de linéarité :** jusqu'à 300 U/ml (363 ng/ml) (1<sup>er</sup> IS 72/225 de l'OMS)

**Sensibilité analytique :** 0,2 U/ml (0,24 ng/ml)

## Essai

Avis : pour obtenir un fonctionnement optimal, il est important de réaliser tous les protocoles de maintenance général selon le défini dans le Manuel de l'Opérateur de vos systèmes IMMULITE 2000.

Consulte le Manuel de l'Opérateur de vos systèmes IMMULITE 2000 pour la préparation, installation, dilutions, ajustement et procédures de contrôle de qualité.

### Intervalle de ajustement recommandé :

4 semaines

**Muestras de Control de Calidad:** Seguir las reglamentaciones gubernamentales o los requisitos de acreditación para conocer la frecuencia de control de calidad.

Utilizar controles o pools de sueros con al menos dos niveles diferentes de AFP (bajo y alto).

Siemens Healthcare Diagnostics recomienda el uso de materiales de control de calidad comercializados con al menos 2 niveles (bajo y alto). Un nivel de funcionamiento satisfactorio se consigue cuando los valores obtenidos del análisis están dentro del rango de control aceptable para el sistema, o dentro del rango establecido determinado por un programa adecuado de control de calidad interno de laboratorio.

## Valores Esperados

**Valores de AFP en pacientes con cáncer testicular**

Basado en su relación con el IMMULITE AFP (ver Método de Comparación), se puede esperar que el ensayo tenga esencialmente los mismos rangos de referencia.

En un estudio que implicó a dos localidades clínicas, se procesaron 119 muestras de suero provenientes de hombres con aparente buena salud (edad mediana: 61; 95% central: 27 a 79 años) mediante el ensayo IMMULITE AFP. Los resultados variaron de 0,5 a 5,5 U/ml, con una mediana de 1,6 U/ml y un percentil 99<sup>o</sup> de 5 U/ml.

El estudio también incluyó a hombres con cáncer testicular; pacientes con otras malignidades (del hígado, vejiga, riñón, páncreas, pulmón, próstata y colon); pacientes con condiciones no malignas (como cirrosis, hepatitis B y C, colitis ulcerosa, enfisema, pólipos en el colon y rectales); y unas pocas mujeres con aparente buena salud. La distribución de los resultados de IMMULITE AFP se tabula abajo (con el número total para cada grupo en paréntesis).

U/ml: <5 5-15 15-100 >100

### Hombres

Hombres sanos (119)

118 1 — —

Cáncer testicular seminomatoso (6)

6 — — —

Cáncer testicular no seminomatoso (60)

14 8 15 23

Cáncer de hígado (10)

3 — 2 5

Otras enfermedades malignas (40)

36 1 — 3

Cirrosis (4)

3 1 — —

Hepatitis (24)

19 4 1 —

Otras enfermedades no malignas (6)

5 — — 1

### Mujeres

Mujeres sanas (29)

29 — — —

Enfermedades malignas (20)

18 — 1 1

Enfermedades no malignas (16)

15 — — 1

Estos límites han de considerarse sólo como una guía. Cada Laboratorio deberá establecer sus propios rangos de referencia.

Se puede esperar que los pacientes con cáncer testicular no seminomatoso tengan una distribución de valores de AFP, dentro y por arriba del rango de referencia para los hombres adultos aparentemente



## Composants du coffret fournis séparément

### Multi-diluant 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Pour la dilution embarquée des échantillons sériques élevés et des échantillons de liquide amniotique. Un flacon contenant une matrice concentrée de tampon / protéines non-humaines avec conservateur (prêt à l'emploi). Stable à 2-8°C pendant 30 jours après ouverture ou 6 mois (alliquoté) à -20°C.

L2M2Z : 25 ml L2M2Z4 : 55 ml

Les étiquettes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16x100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.

L2M2Z : 3 étiquettes

L2M2Z4 : 5 étiquettes

L'analyse du liquide amniotique requiert une dilution au 1:101 de l'échantillon (dilution embarquée avec Multi-Diluant 2).

L2SUBM : Substrat chimiluminescent

L2PWSM : Solution de lavage

L2KPM : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

LRXT : Godets réactionnels (jetables)

LZZT : 250 Tubes A essai De Diluant échantillon (16 x 100 mm)

LZZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

Egaleme requis

Eau distillée ou désionisée ; tubes en verre ; contrôles

### Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000.

Voir le Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000 pour la préparation, le démarrage du système, la dilution, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

**Intervalle d'ajustement recommandé :** 4 semaines

**Echantillons pour le contrôle de qualité :** Suivre les réglementations gouvernementales et les exigences relatives aux accréditations en matière de fréquence de contrôle qualité.

Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevée) d'AFP.

Siemens Healthcare Diagnostics recommande d'utiliser des échantillons de contrôle de qualité en vente dans le commerce et comprenant au moins 2 niveaux (bas et haut). Un niveau de performance satisfaisant est atteint lorsque les valeurs d'analyse obtenues se situent dans l'intervalle de contrôle acceptable du système ou dans un intervalle déterminé par un schéma de contrôle de qualité approprié interne au laboratoire.

### Valeurs de référence

**Valeurs d'alpha-fœtoprotéine chez les patients atteints d'un cancer testiculaire**

Compte tenu de sa relation avec le dosage IMMULITE AFP (voir méthode de comparaison), le test doit avoir les mêmes valeurs de référence.

Dans une étude impliquant deux sites cliniques, 119 échantillons de sérum d'hommes apparemment en bonne santé (médiane : 61, centré à 95 % : 27 à 79 ans) ont été dosés avec le test AFP IMMULITE.

Les résultats s'échelonnaient entre 0,5 et 5,5 U/ml, avec une médiane à 1,6 U/ml et un 99ème percentile à 5 U/ml.

Cette étude comprenait également des hommes atteints d'un cancer testiculaire ; des patients atteints d'autres états malins (du foie, de la vessie, des reins, du pancréas, des poumons, de la prostate et du colon) ; des patients souffrant de pathologies non cancéreuses (en l'occurrence cirrhose, hépatite B et C, rectocolite ulcéro-hémorragique, emphysème, polypes du colon et du rectum) ; et quelques femmes apparemment en bonne santé. Les résultats obtenus avec le dosage IMMULITE AFP figurent dans le tableau ci-dessous (le nombre total d'individus de chaque groupe est indiqué entre parenthèses).

conditions hépatiques bénignes comme la hépatite virale aiguë, hépatite active chronique et cirrose peuvent être présentes avec des concentrations élevées de AFP en sérum. Aussi, il se peut que les concentrations élevées de AFP en sérum pendant la grossesse, en la ataxia-télangiectasia et en la tyrosinémie héréditaire.

**Analyses prénatal: La évaluation fiable de AFP pour le analyse prénatal requiert la détermination précise de la edad gestacional. Une subestimation de la edad gestacional puede producir una détermination positiva falsa, mientras que una sobrestimación puede resultar en una interpretación negativa falsa. Cuando no hay certeza sobre la edad gestacional se indica la confirmación con ecografía.**

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis *in vitro*. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasione un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia, no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

### Características Analíticas

Para ver resultados representativos de las cualidades del ensayo ver las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en IU/ml. A menos que se indique lo contrario, todos los resultados se obtuvieron en muestras de suero testicular.

**Factor de Conversión:**

IU/ml x 1,21 → ng/ml

**Intervalo de Calibración:** hasta 300 IU/ml (363 ng/ml) (WHO 1° IS 72/225)

**Sensibilidad:** 0,2 IU/ml (0,24 ng/ml)

**Efecto de gancho a altas dosis:**

Ninguno hasta 534 000 IU/ml

**Precisión:** Las muestras fueron analizadas por duplicado durante 20 días, en dos tandas de trabajo por día, para un total de 40 tandas y 80 replicas. (Ver la tabla de "Precision".)

**Linealidad:** Las muestras de suero y líquido amniótico fueron analizadas empleando varias diluciones. (Ver la tabla de "Linearity" para resultados representativos.)

**Recuperación:** Se analizaron muestras de suero inoculadas 1 en 20 con tres soluciones de AFP (286, 700 y 1324 IU/ml). También se analizaron muestras amnióticas inoculadas 1 en 20 con tres muestras de alta concentración de líquido amniótico (10 000, 20 000 y 36 000 IU/ml). (Ver la tabla de "Recovery" para resultados representativos.)

**Especificidad:** El ensayo es altamente específico para AFP. (Ver la tabla de "Specificity".)

**Bilirrubina (no conjugado):** Basado en la relación del ensayo con el IMMULITE AFP, la bilirrubina tiene un efecto mínimo (por el test t) pero estadísticamente significativo. (Ver la tabla de "Bilirubin" para el estudio de IMMULITE AFP.)

**Hemolisis:** La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 192 mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

**Lipemia:** La presencia de lipemia, en concentraciones hasta 3000 mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

**Comparación de los métodos -**

**Estudios de cáncer testicular:** Se comparó el ensayo con el IMMULITE AFP en un total de 205 muestras provenientes de pacientes masculinos con diferentes estadios clínicos de cáncer testicular no seminomatoso, pre y postquirúrgico. (Rango de Concentración: aproximadamente 0,3-280 IU/ml.) Por regresión lineal:

(IML 2000) = 1,04 (IML) + 0,34 IU/ml

r = 0,998

n = 205



pour les mesures du sérum maternel et du liquide amniotique.

**Remarque :** pour obtenir la brochure IMMULITE 2000 AFP destinée aux médecins (Cat. #ZS1105) et celle destinée aux patients (Cat. #ZS1106), qui décrivent les tests prénatals d'alpha-fœtoprotéine pour le dépistage de défauts de fermeture du tube neural, contacter distributeur national.

### Principe du test

Le test IMMULITE 2000 AFP est un dosage immunométrique séquentiel chimiluminescent en phase solide.

**Cycles d'incubation :** 2 x 30 minutes

### Recueil des échantillons

**Sérum :** prélevez du sang par ponction veineuse<sup>31</sup> dans des tubes lissés et séparez le sérum des cellules dès que possible. Pour obtenir des spécimens valables, ils doivent être prélevés avant l'amniocentèse.

Il est recommandé de clarifier les échantillons hyperlipémiques par ultracentrifugation.

Des échantillons hémolysés peuvent être révélateurs d'une préparation inadéquate du prélèvement avant son envoi au laboratoire ; il faudra donc interpréter les résultats avec prudence.

Des échantillons ictériques ou fortement contaminés peuvent donner des résultats erronés.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dus à la présence de fibrine, s'assurer de la formation complète du caillot avant de centrifuger les échantillons. Certains échantillons, en particulier ceux provenant de patients sous anti-coagulants, peuvent nécessiter un temps plus long pour la formation du caillot.

Des tubes pour prélèvements sanguins provenant de fabricants différents peuvent donner des résultats différents, selon les matériaux et additifs utilisés, y compris gels ou barrières physiques, activateurs de la coagulation et/ou anticoagulants. Le coffret AFP IMMULITE 2000 n'a pas été

testé sur tous les types de tubes possibles.

**Liquide amniotique :** prélevez le liquide amniotique par amniocentèse dans des tubes lissés. Les échantillons doivent être obtenus par amniocentèse transabdominale aseptique par un obstétricien expérimenté durant le deuxième trimestre de la grossesse chez les femmes dont l'âge de gestation a été confirmé. Centrifugez le spécimen et conservez une partie du surnageant clair. Examinez le surnageant et le sédiment pour y détecter la présence éventuelle de sang ou d'hémoglobine, car une contamination hémoglobinique, même à l'état de trace, de la substance foetale entraînera une augmentation de la concentration apparente d'alpha-fœtoprotéine et rendra le spécimen impropre à l'analyse. L'origine de la substance foetale doit être déterminée par un test d'hémoglobine foetale. En cas de contamination foetale et de concentration élevée d'alpha-fœtoprotéine, un spécimen additionnel doit être prélevé pour évaluation après 7 à 10 jours. La contamination du liquide amniotique par le sérum maternel n'affectera pas l'exactitude des taux d'alpha-fœtoprotéine pour autant que le degré de cette contamination soit insuffisant pour diluer l'échantillon. Ci-après dans la présente notice explicative, le terme *liquide amniotique* désigne le surnageant clair obtenu par centrifugation du liquide amniotique.

**Synchronisation :** il est essentiel de connaître l'âge de gestation pour évaluer les résultats d'alpha-fœtoprotéine. Idéalement, le prélèvement du sérum doit être effectué entre la 16<sup>ème</sup> et la 18<sup>ème</sup> semaine, et entre la 16<sup>ème</sup> et la 20<sup>ème</sup> semaine pour le liquide amniotique. Les échantillons sériques doivent être prélevés avant l'amniocentèse étant donné que cette dernière est susceptible d'entraîner des taux de sérum maternel élevés erronés pendant 2 à 3 semaines.

**Volume nécessaire**

**Sérum :** 10 µl

**Liquide amniotique :** 10 µl de spécimen prédilué de liquide amniotique.

### Efficacité clinique pour le sérum maternel.

Semana de Gestational	n	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	276	94,2%	97,5%	98,6%
16	304	96,1%	99,0%	99,7%
17	272	97,1%	99,3%	99,6%
18	287	95,8%	98,6%	99,3%
19	152	93,4%	98,0%	99,3%
20	41	95,1%	100%	100%
15-20	1332	95,5%	98,6%	99,3%
IC del 95% para todas las muestras		94,2%—96,5%	97,8%—99,1%	98,7%—99,7%

### Sensibilidad clínica para el líquido amniótico, n = 8:

Semana de Gestational	n	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15-20	87	5%	7,5%	8,5%
IC del 95% para todas las muestras		47,3%—99,7%	47,3%—99,7%	47,3%—99,7%

### Efficacité clinique pour le liquide amniotique:

Semana de Gestational	n	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	53	100%	100%	100%
16	50	98,0%	100%	100%
17	28	100%	100%	100%
18	20	100%	100%	100%
19	13	92,3%	100%	100%
20	10	100%	100%	100%
15-20	174	98,9%	100%	100%
IC del 95% para todas las muestras		95,9%—99,9%	97,9%—100%	97,9%—100%

### Assistenza técnica

Pongase en contacto con el distribuidor nacional.

[www.siemens.com/diagnostics](http://www.siemens.com/diagnostics)

## Français

### IMMULITE 2000 AFP

**Domaine d'utilisation :** diagnostic *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000 — pour la mesure quantitative d'alpha-fœtoprotéine dans un des deux contextes suivants : (a) les mesures en série du sérum humain pour contribuer à la prise en charge des patients atteints d'un cancer testiculaire de stade 1 ou (b) les mesures du sérum maternel et du liquide amniotique entre la 15<sup>ème</sup> et la 20<sup>ème</sup> semaine de gestation (utilisé conjointement avec une échographie ou une amniographie) pour contribuer au dépistage d'anomalies du tube neural chez le fœtus.

### Référence catalogue :

**L2KAP2** (200 tests) **L2KAP6** (600 tests)

Code produit : **AF** Code couleur : **gris clair**

Les concentrations en AFP d'un échantillon donné, déterminées à l'aide de dosages provenant de différents fabricants, peuvent varier du fait des méthodes utilisées et de la spécificité des réactifs. **Les résultats transmis par le laboratoire aux médecins doivent mentionner la méthode utilisée. Les valeurs obtenues à l'aide de différentes méthodes ne sont pas interchangeables.** Avant de modifier les dosages, le laboratoire doit : (a) pour le traitement du cancer, confirmer les valeurs de référence pour les patients contrôlés en série ; (b) pour le diagnostic prénatal, définir une gamme de valeurs normales pour le nouveau dosage en fonction des sérums normaux et des fluides amniotiques de femmes enceintes dont l'âge de gestation a été confirmé.

### Introduction

L'alpha-fœtoprotéine (AFP) est une glycoprotéine formée d'une seule chaîne de masse moléculaire de 70 000 Daltons. Certaines séquences de l'AFP sont