

 IMMULITE[®]
2000

AFP

DPC[®]

IMMULITE® 2000 AFP

English

IMMULITE 2000 AFP

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE 2000 Analyzer – for the quantitative measurement of alpha-fetoprotein (AFP) in either of two contexts: (a) serial measurements in human serum to aid in the management of patients with nonseminomatous testicular cancer; or (b) measurements in maternal serum and amniotic fluid during gestational weeks 15 through 20 – used in conjunction with ultrasonography or amniography – to aid in detection of fetal open neural tube defects.

Catalog Numbers: **L2KAP2** (200 tests)
L2KAP6 (600 tests)

Test Code: **AF** Color: **Light Gray**

Caution: In the United States, federal law restricts this device to sale by or on the order of a physician.

The concentration of AFP in a given specimen determined with assays from different manufacturers can vary due to differences in assay methods and reagent specificity. **The results reported by the laboratory to the physician must include the identity of the assay used. Values obtained with different AFP assays cannot be used interchangeably.** Before changing assays, the laboratory must: (a) for cancer management – confirm baseline values for patients being serially monitored; (b) for prenatal testing – establish a range of normal values for the new assay based on normal sera and amniotic fluids from pregnant women with confirmed gestational age.

Summary and Explanation

Alpha-fetoprotein (AFP) is a single-chain glycoprotein with a molecular mass of approximately 70,000 daltons. AFP shares considerable sequence homology with albumin, and is produced by the fetus

primarily in cells of the yolk sac, gastrointestinal tract and liver. AFP appears as a major serum protein in the fetus, but its concentration decreases rapidly toward birth.^{1,2,3} The reappearance of elevated AFP concentrations in adult serum has been observed not only during pregnancy, but also in conjunction with several benign and malignant diseases.

Testicular Cancer

Elevated levels of AFP have been observed not only in patients with nonseminomatous testicular cancer, but also in patients with other malignancies such as hepatocellular carcinoma, ovarian cancer, gastrointestinal cancer and pulmonary cancer.⁸⁻¹⁵ Serum AFP is frequently elevated in benign hepatic conditions such as acute viral hepatitis, chronic active hepatitis and cirrhosis. Conditions of pregnancy, ataxia telangiectasia and hereditary tyrosinemia have also presented with elevated concentrations of AFP.⁸⁻¹⁵

Seminomas, in pure form, do not present with elevated concentrations of AFP. However, elevated concentrations of serum AFP have been observed in patients diagnosed with seminomatous testicular cancer accompanied by nonseminomatous metastases.^{9,16,18,19} During chemotherapy, patients with advanced seminoma and hepatic dysfunction have also presented with elevated serum AFP concentrations.²⁰ The interpretation of elevated AFP concentrations in patients with seminoma requires special consideration and should assist the clinician in the selection of appropriate therapy.^{8,15,21}

The clinical utility of AFP measurement as an aid in the management of patients with nonseminomatous testicular cancer is well documented.^{9,16,17,18,22} AFP measurement has found clinical application as an aid in assessing the extent of disease.^{18,22-26}

Serial measurements of serum AFP have been shown to reflect the effectiveness of therapeutic regimens in patients with nonseminomatous testicular tumors.^{9,15,17,26,27} Post-surgical determinations of AFP are particularly

valuable. The presence of residual tumor is strongly suggested if post-operative AFP concentrations fail to return to normal.^{9,15,28,29} The accurate interpretation of post-surgical changes in AFP concentration requires consideration of its metabolic decay rate.^{21,22,24,25} 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.^{17,21} In such instances, completion of the planned therapy has been recommended.²¹

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.^{9,17,18} Elevated AFP levels have frequently been observed to accompany tumor recurrence before progressive disease is clinically evident.^{9,18}

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 2,000 kIU/mL, the amniotic fluid AFP (AFAFP) 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.³⁴ The AFAFP concentration peaks at about 12 weeks and the MSAFP peaks at approximately 28 – 32 weeks gestation.³⁶ The fall in AFAFP concentration reflects the fall in fetal serum AFP concentration which results from increased fetal size and fluid volume.³⁴ Elevated levels of MSAFP and AFAFP 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;³⁵ 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.^{35,37} These conditions are found in open NTDs including open spina bifida and anencephaly, omphalocele, and congenital nephrosis.^{32,38} 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.³⁵

Recommended protocols for open NTD screening have been published.^{33,35} 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 AFAFP 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.³⁵

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 AFAFP concentrations. Thus, further testing is required to define fetal status. In light of these considerations and the multiple causes for elevated AFP concentrations, all clinical information

should be evaluated and confirmatory tests performed wherever possible before reaching a diagnosis.

AFP can be measured by several immunologic techniques, depending on the degree of sensitivity desired. Radial immunodiffusion, countercurrent immunoelectrophoresis, and rocket immunoelectrophoresis are three techniques well suited for research applications. Enzyme-linked immunosorbent assays and radioimmunoassays of both competitive and non-competitive designs have been successfully employed clinically both for maternal serum and amniotic fluid measurements.

Note: IMMULITE 2000 AFP Physician Brochure (Cat. #ZS1105) and Patient Brochure (Cat. #ZS1106), explaining the use of AFP prenatal testing to aid in the detection of fetal open NTD are available by calling DPC Customer Services 1-800-372-1782 or your National Distributor.

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 AFP is a solid-phase, two-site sequential chemiluminescent immunometric assay.

Incubation Cycles: 2 × 30 minutes.

Specimen Collection

Serum: Collect blood by venipuncture³¹ into plain tubes and separate the serum from the cells as soon as possible. Specimens must be obtained before amniocentesis to obtain a valid specimen.

The use of an ultracentrifuge is recommended to clear lipemic samples.

Hemolyzed samples may indicate mistreatment of a specimen before receipt by the laboratory; hence the results should be interpreted with caution.

Icteric or grossly contaminated samples may give erroneous results.

Centrifuging serum samples before a complete clot forms may result in the presence of fibrin. To prevent erroneous results due to the presence of fibrin, ensure that complete clot formation has taken place prior to centrifugation of samples. Some samples, particularly those from patients receiving

anticoagulant therapy, may require increased clotting time.

Blood collection tubes from different manufacturers may yield differing values, depending on materials and additives, including gel or physical barriers, clot activators and/or anticoagulants. IMMULITE 2000 AFP has not been tested with all possible variations of tube types.

Amniotic Fluid: Collect amniotic fluid by amniocentesis into plain tubes. Samples should be obtained by aseptic transabdominal amniocentesis performed by an experienced obstetrician during the second trimester of pregnancy in women with confirmed gestational age. Centrifuge the specimen, retaining a portion of the clear supernatant. Inspect both supernatant and sediment for signs of blood or hemoglobin, as contamination by even trace amounts of fetal material will raise the apparent AFP concentration of the sample, rendering it unsuitable for analysis. The origin of the fetal material should be determined by a test for fetal hemoglobin. If fetal contamination has occurred and the AFP concentration is elevated, an additional specimen should be obtained after 7 to 10 days for evaluation. Amniotic fluid contamination by maternal serum may reflect accurate AFP levels provided the degree of contamination is not sufficient to dilute the sample. Henceforth in this package insert, *amniotic fluid* refers to the clear supernatant obtained from amniotic fluid by centrifugation.

Timing: It is essential to know the gestational age to evaluate AFP results. The recommended time for collection is 16 to 18 weeks for serum, 16 to 20 weeks for amniotic fluid. Serum samples must be collected before amniocentesis since this procedure may lead to spuriously elevated maternal serum levels persisting for 2 to 3 weeks.

Volume Required

Serum: 10 µL.

Amniotic fluid: 10 µL of prediluted amniotic fluid specimen.

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 (L2APA2)

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 (aliquotted) 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 (aliquotted) 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 × 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

LRXT: Reaction Tubes (disposable)

L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes

(16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps
TMCO: Tri-level, multi-constituent control.

Also Required
 Distilled or deionized water; test tubes;
 controls.

Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE 2000 Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval:
 4 weeks.

Quality Control Samples: Use controls or serum pools with at least two levels (low and high) of AFP.

Expected Values

AFP Values in Testicular Cancer Patients

Based on its relationship to DPC's IMMULITE AFP (see Method Comparison), the assay can be expected to have essentially the same reference ranges.

In a study involving two clinical sites, 119 serum samples from men in apparent good health (median age: 61; central 95%: 27 to 79 years) were processed by the IMMULITE AFP assay. The results ranged from 0.5 to 5.5 IU/mL, with a median of 1.6 IU/mL and a 99th percentile of 5 IU/mL.

The study also included men with testicular cancer; patients with other malignancies (of liver, bladder, kidney, pancreas, lung, prostate and colon); patients with nonmalignant conditions (such as cirrhosis, hepatitis B and C, ulcerative colitis, emphysema, colon and rectal polyps); and a few women in apparent good health. The distribution of IMMULITE AFP results is tabulated below (with the total number for each group in parentheses).

IU/mL:	<5	5–15	15–100	>100
Males				
Healthy Males (119)				
	118	1	—	—
Seminomatous Testicular Cancer (6)				
	6	—	—	—
Nonseminomatous Testicular Cancer (60)				
	14	8	15	23
Liver Cancer (10)				
	3	—	2	5
Other Malignant Diseases (40)				
	36	1	—	3
Cirrhosis (4)				
	3	1	—	—
Hepatitis (24)				
	19	4	1	—
Other Nonmalignant Diseases (6)				
	5	—	—	1
Females				
Healthy Females (29)				
	29	—	—	—
Malignant Diseases (20)				
	18	—	1	1
Nonmalignant Diseases (16)				
	15	—	1	—

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

Patients with nonseminomatous testicular cancer can be expected to have a distribution of AFP values both within and above the reference range for apparently healthy adult male subjects. In pure form, seminomas do not present with elevated serum AFP levels. However, elevated AFP levels have been observed in patients diagnosed with seminomas accompanied by metastases of nonseminomatous testicular cancer.⁸

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).⁸⁻¹⁵

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	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

*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.

Prenatal Testing: A reliable AFP evaluation for prenatal testing requires precise determination of the gestational age. Underestimation of the gestational age may lead to false positive determination, while overestimation of gestational age may result in a false negative interpretation. When gestational age is uncertain, confirmation with ultrasonography is indicated.

Heterophilic antibodies in human serum can react with the immunoglobulins included in the assay components causing interference with *in vitro* immunoassays. [See Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Samples from patients routinely

exposed to animals or animal serum products can demonstrate this type of interference potentially causing an anomalous result. These reagents have been formulated to minimize the risk of interference; however, potential interactions between rare sera and test components can occur. For diagnostic purposes, the results obtained from this assay should always be used in combination with the clinical examination, patient medical history, and other findings.

Performance Data

See tables and graphs for data *representative* of the assay's performance. Results are expressed in IU/mL. Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected from testicular cancer patients.

Conversion Factor:

IU/mL × 1.21 → ng/mL

Calibration Range: up to 300 IU/mL (363 ng/mL) (WHO 1st IS 72/225).

Analytical Sensitivity: 0.2 IU/mL (0.24 ng/mL).

High-dose Hook: No effect up to 534,000 IU/mL.

Precision: Seven samples were processed in duplicate over the course of 20 days, two runs per day, for a total of 40 runs and 80 replicates. (See "Precision" table.)

Linearity: Serum and amniotic fluid samples were assayed under various dilutions. (See "Linearity" table for representative data.)

Recovery: Serum samples spiked 1-in-20 with three AFP solutions (286, 700 and 1,324 IU/mL) were assayed. Amniotic samples spiked 1-in-20 with three high amniotic fluid samples (10,000, 20,000 and 36,000 IU/mL) were also assayed. (See "Recovery" tables for representative data.)

Specificity: The assay is highly specific for AFP. (See "Specificity" table.)

Bilirubin (unconjugated): Based on the assay's relationship to IMMULITE AFP, bilirubin has a small but (by *t*-test) statistically significant effect. (See "Bilirubin" table for the IMMULITE AFP study.)

Hemolysis: Presence of hemoglobin in concentrations up to 192 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of lipemia in concentrations up to 3,000 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Method Comparison – Testicular

Cancer Studies: The assay was compared to DPC's IMMULITE AFP on a total of 205 samples from male patients in different clinical stages, pre- and post-surgery, **of nonseminomatous testicular cancer**. (Concentration range: approximately 0.3 – 280 IU/mL.) By linear regression:

(IML 2000) = 1.04 (IML) + 0.34 IU/mL
 r = 0.998
 n = 205

95% Confidence Interval (CI)	Slope	Intercept
Lower	1.03	-0.51
Upper	1.05	1.20

Method Comparison – Neural Tube

Defect Studies: In two separate clinical studies conducted in the United States, IMMULITE 2000 AFP results were compared to two legally marketed assays (Kit A and Kit B) in a linear regression for **maternal serum** samples, in the range from nondetectable to 300 IU/mL. By linear regression:

(IML 2000) = 0.91 (Kit A) + 1.81 IU/mL
 r = 0.98
 n = 346

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 = 1,015

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 DPC's 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.

The assay was also compared to DPC's 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	0.99	-0.60
Upper	1.03	0.91

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	1,332	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%

Clinical Specificity for Amniotic Fluid:

Gestational Week	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% CI for All Samples		95.9% – 99.9%	97.9% – 100%	97.9% – 100%

References

Testicular Cancer

1) Herberman, ed. Immunodiagnosis of cancer. 1979:101. 2) Int J Cancer 1971;7:218. 3) Cancer Res 1972;32:979. 4) Scand J Clin Lab Investig 1956;8:174. 5) Acta Unio Internationalis Contra Cancrum 1963;19:80. 6) Vopr Med Khim 1964;10:90. 7) Int J Cancer 1968;3:364. 8) Hum Pathol 1979;10:557. 9) Lancet 1976;2:433. 10) Adv Cancer Res 1971;14:295. 11) Proc Natl Acad Sci USA 1973;70:526. 12) Kirkpatrick, ed. Alpha-fetoprotein. 1981:115. 13) Cancer 1979;44:984. 14) Cancer Res 1975;35:991. 15) Cancer 1974;34:1510. 16) Med Intelligence 1976;295:1237. 17) Cancer 1976;37:215. 18) J Urol 1977;118:994. 19) Cancer 1978;42:2768. 20) J Clin Oncol 1986;4:41. 21) Rose, ed. Manual of clinical laboratory immunology. 1986:810. 22) Cancer 1981;47:328. 23) Urol Clin North Am 1977;4:393. 24) Ravitch, ed. Current problems in surgery. 1978:1. 25) Cancer 1980;45:1755. 26) Pavone-Macaluso, ed. Testicular cancer and other tumors. 1983:63. 27) J Urol 1978;119:759. 28) Kirkpatrick, ed. Alpha-fetoprotein. 1981:135. 29) N Eng J Med 1977;296:693. 30) Eur J Clin Chem Biochem 1993;31:517. 31) NCCLS H3-A4, 1998.

Fetal Open Neural Tube Defects

32) Brock DJH. Prenatal diagnosis – chemical methods. Br Med Bull 1976;32:16. 33) Crandall BF. Alpha-fetoprotein: a review. CRC Crit Rev Clin Lab Sci 1981;Sept:127-85. 34) Gittlin D. Normal biology of AFP. Ann NY Acad Sci 1975;259:17-28. 35) Haddow JE, et al. Fetal disorders associated with elevated MSAFP values. Foundation Blood Res 1990:1. 36) Leek AE, Chard T. Proceedings of colloquium on alpha-fetoprotein. In: Masseyeff R, editor. Paris: L'Institut National de la Sante et de la Recherche Medicale 563, (Nice) 1974. 37) Second Report of the Collaborative Study on Alpha-Fetoprotein in Relation to Neural Tube Defects. Amniotic fluid alpha-fetoprotein measurement in antenatal diagnosis of anencephaly and open spina bifida in early pregnancy. Lancet 1979;ii:651. 38) Seppälä M. Fetal pathophysiology of human α -fetoprotein. Ann N Y Acad Sci 1975;259:59.

Technical Assistance

In the United States, contact DPC's Technical Services department.
Tel: 800.372.1782 or 973.927.2828
Fax: 973.927.4101. Outside the United States, contact your National Distributor.

Manufactured by EURO/DPC Ltd. under a Quality System registered to ISO 13485:2003.

Tables and Graphs

Precision (IU/mL)

	Mean ³	Within-Run ¹		Total ²	
		SD ⁴	CV ⁵	SD	CV
1	0.80	0.05	6.3%	0.10	12%
2	2.8	0.10	3.6%	0.20	7.1%
3	13	0.27	2.1%	0.72	5.5%
4	31	0.82	2.7%	1.71	5.5%
5	44	0.96	2.2%	2.1	4.8%
6	60	1.5	2.5%	2.7	4.5%
7	182	4.4	2.4%	8.4	4.6%

Linearity (IU/mL) – Serum

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

Linearity (IU/mL) – Amniotic Fluid

	Total Dilution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	1 in 100	153	—	—
	1 in 200	76	77	99%
	1 in 400	37	38	97%
	1 in 800	19	19	100%
	1 in 1,600	9.0	9.6	94%
	1 in 3,200	4.6	4.8	96%
2	1 in 100	190	—	—
	1 in 200	91	95	96%
	1 in 400	47	48	98%
	1 in 800	24	24	100%
	1 in 1,600	13	12	108%
	1 in 3,200	5.9	5.9	99%
3	1 in 100	268	—	—
	1 in 200	139	134	104%
	1 in 400	68	67	101%
	1 in 800	33	34	97%
	1 in 1,600	17	17	100%
	1 in 3,200	8.6	8.4	103%

Recovery (IU/mL) – Serum

	Solution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	—	7.8	—	—
	A	21	22	96%
	B	40	42	95%
	C	75	74	101%
2	—	32	—	—
	A	44	48	92%
	B	61	65	94%
	C	96	97	99%
3	—	65	—	—
	A	76	76	100%
	B	98	97	101%
	C	135	128	106%
4	—	124	—	—
	A	125	132	95%
	B	147	153	96%
	C	183	184	100%
5	—	151	—	—
	A	159	158	101%
	B	182	179	102%
	C	216	210	103%
6	—	250	—	—
	A	247	252	98%
	B	261	273	96%
	C	300	304	99%

Recovery (IU/mL) – Amniotic Fluid

	Low Amniotic Sample ¹	Spiking High Amniotic Sample ²	Observed ³	Expected ⁴	%O/E ⁵
1	—	—	303	—	—
		A	805	788	102%
		B	1,347	1,288	105%
		C	2,142	2,088	103%
2	—	—	4,203	—	—
		A	4,306	4,493	96%
		B	6,404	4,993	128%
		C	5,714	5,793	99%
3	—	—	8,398	—	—
		A	8,849	8,478	104%
		B	9,437	8,978	105%
		C	10,567	9,778	108%

Specificity

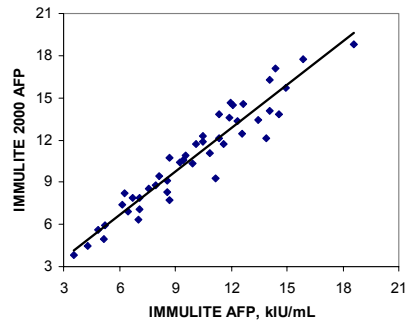
Compound ¹	Amount Added ²	% Cross reactivity ³
Human Serum Albumin	60 mg/mL	ND
Human Transferrin	400 mg/dL	ND
Human Hemoglobin	192 mg/dL	ND
Cyclophosphamide	1,000 µg/mL	ND
Doxorubicin HCl	100 µg/mL	ND
Cisplatin	100 µg/mL	ND
Vincristine	1,000 ng/mL	ND
5-Fluorouracil	1,000 µg/mL	ND
Mitomycin C	100 µg/mL	ND

ND: not detectable.⁴

Bilirubin

	Bilirubin (unconjugated) ¹				
	100 mg/L			200 mg/L	
	Expected ²	Observed ³	%O/E ⁴	Observed	%O/E
1	5.3	4.9	92%	5.1	96%
2	5.7	5.3	93%	5.6	98%
3	26	24	94%	25	97%
4	48	46	95%	46	95%
5	49	46	93%	46	93%

Method Comparison – Amniotic Fluid:



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

Deutsch. Precision: ¹Intra-Assay, ²Gesamt, ³Mittelwert, ⁴S (Standardabweichung), ⁵CV (Variationskoeffizient). **Linearity – Serum:** ¹Verdünnung, ²Beobachten (B), ³Erwarten (E), ⁴% B/E, ⁵8 in 8. **Linearity – Amniotic Fluid:** ¹Gesamten Verdünnung, ²Beobachten (B), ³Erwarten (E), ⁴% B/E, ⁵8 in 8. **Recovery – Serum:** ¹Lösung, ²Beobachten (B), ³Erwarten (E), ⁴% B/E. **Recovery – Amniotic Fluid:** ¹Niedrige Fruchtwasser-Proben, ²Spiking hoch

Fruchtwasser-Proben. ³Beobachten (B), ⁴Erwarten (E), ⁴% B/E. **Specificity:** ¹Verbindung, ²zugesezte Menge, ³% Kreuzreaktivität, ⁴NN: Nicht nachweisbar. **Bilirubin.** ¹Bilirubin (unconjugiert), ²Erwarten (E), ³Beobachten (B), ⁴% B/E

Español. Precision: ¹Intraensayo, ²Total, ³Media, ⁴DS, ⁵CV. **Linearity – Serum:** ¹Dilución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵8 en 8. **Linearity – Amniotic Fluid:** ¹Dilución total, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵8 en 8. **Recovery – Serum:** ¹Solución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. **Recovery – Amniotic Fluid:** ¹Muestra de bajo contenido de líquido amniótico, ²Inoculación de muestra de alto contenido de líquido amniótico, ³Observado (O), ⁴Esperado (E), ⁵%O/E. **Specificity:** ¹Compuesto, ²Cantidad añadida, ³% Reacción cruzada, ⁴ND: no detectable. **Bilirubin.** ¹Bilirubina (no conjugado), ²Esperado (E), ³Observado (O), ⁴%O/E.

Français. Precision: ¹Intraessai, ²Total, ³Moyenne, ⁴SD, ⁵CV. **Linearity – Serum:** ¹Dilution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A, ⁵8 dans 8. **Linearity – Amniotic Fluid:** ¹Dilution total, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A, ⁵8 dans 8. **Recovery – Serum:** ¹Solution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A. **Recovery – Amniotic Fluid:** ¹Echantillon amniotique faible, ²Echantillon amniotique élevé pour dilution, ³Observé (O), ⁴Attendu (A), ⁵%O/A. **Specificity:** ¹Composé, ²ajouté, ³Réaction croissée %. ⁴ND: non détectable. **Bilirubin.** ¹Bilirubine (non-conjugué), ²Attendu (A), ³Observé (O), ⁴%O/A.

Italiano. Precision: ¹Intra-serie, ²Totale, ³Media, ⁴SD (Deviazione Standard), ⁵CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity – Serum:** ¹Diluzione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A, ⁵8 in 8. **Linearity – Amniotic Fluid:** ¹Diluzione totale, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A, ⁵8 in 8. **Recovery – Serum:** ¹Soluzione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A. **Recovery – Amniotic Fluid:** ¹Liquido amniotico bassa, ²Spiking liquido amniotico alta, ³Osservato (O), ⁴Atteso (A), ⁵%O/A. **Specificity:** ¹Composto, ²quantità aggiunta, ³Percentuale di Crossreattività, ⁴ND: non determinabile. **Bilirubin.** ¹bilirubina (non coniugato), ²Atteso (A), ³Osservato (O), ⁴%O/A.

Português. Precision: ¹Entre-ensaios, ²Total, ³Média, ⁴Desvio padrão, ⁵Coefficiente de variação. **Linearity – Serum:** ¹Diluição, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵8 em 8. **Linearity – Amniotic Fluid:** ¹Diluição total, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵8 em 8. **Recovery – Serum:** ¹Solução, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. **Recovery – Amniotic Fluid:** ¹Amostra amniótica baixa, ²Divisão da Amostra amniótica elevada, ³Observado (O), ⁴Esperado (E), ⁵%O/E. **Specificity:** ¹Composto, ²Quantidade adicionada, ³Percentagem de reacção cruzada, ⁴ND: não detectável. **Bilirubin.** ¹bilirubina (não-conjugado), ²Esperado (E), ³Observado (O), ⁴%O/E.

IMMULITE 2000 AFP

Anwendung: Für in-vitro-diagnostische Tests mit dem Analysegerät IMMULITE 2000 – zur quantitativen Messung von Alphafetoprotein (AFP) in folgenden Anwendungsbereichen: a) Bestimmung im Serum als Verlaufs-kontrolle von Patienten mit nicht-seminomatösen 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 Serum und Fruchtwasser von Frauen mit normaler Schwangerschaft in Abhängigkeit von der bestätigten Schwangerschaftswoche erstellen.

Klinische Relevanz

Alphafetoprotein (AFP) ist ein einkettiges Glykoprotein mit einem Molekulargewicht 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.^{1,2,3} 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.⁸⁻¹⁵ 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.⁸⁻¹⁵

Reine Seminome sind immer AFP-negativ. Erhöhte AFP-Spiegel findet man jedoch bei Patienten mit seminomatösem Hodenkarzinom, die nichtseminomatöse Metastasen haben.^{9,16,18,19} Auch bei Patienten mit fortgeschrittenem Seminom und Leberfunktionsstörung traten unter Chemotherapie erhöhte AFP-Werte auf.²⁰ Die Interpretation erhöhter AFP-Werte bei Seminom-Patienten erfordert spezielle Überlegungen und sollte den Klinikern in der Wahl einer entsprechenden Therapie unterstützen.^{8,15,21}

Der klinische Nutzen der AFP-Messung als Mittel der Patientenführung bei nichtseminomatösem Hodenkarzinom ist gut dokumentiert.^{9,16,17,18,22} Der AFP-Wert wird in der Klinik für die Beurteilung der Ausbreitung der Erkrankung herangezogen.^{18,22-26}

Serielle Messungen des Serum-AFP spiegeln die therapeutische Effizienz bei Patienten mit nicht-seminomatösem Hodenkarzinom wider.^{9,15,17,26,27} Die postoperative Bestimmung des AFP ist teilweise wichtig. Wenn sich die postoperativen AFP-Werte nicht normalisieren, muß dies als starker Verdacht auf einen Resttumor gewertet werden.^{9,15,28,29} Die korrekte Interpretation postoperativer AFP-Konzentrationen muß unter Berücksichtigung der physiologischen Halbwertszeit des AFP erfolgen.^{21,22,24,25} Wenn das AFP zum Therapie-Monitoring oder zur Verlaufskontrolle unter Chemotherapie

verwendet wird, sollte berücksichtigt werden, daß die AFP-Spiegel während der Therapie oft schnell abfallen (bis in den Referenzbereich Gesunder), obwohl der Tumor noch nachweisbar ist.^{17,21} In diesen Fällen wird die Fortsetzung der geplanten Therapie empfohlen.²¹

Für die posttherapeutische Verlaufskontrolle von Patienten mit nicht-seminomatösem Hodenkarzinom wurden AFP-Messungen empfohlen, um Progression oder Rezidiv der Erkrankung zu erkennen.^{9,17,18} Dabei traten erhöhte AFP-Spiegel häufig vor den klinischen Anzeichen des Rezidivs auf.^{9,18}

Fötale offene Neuralrohrdefekte

AFP kann nicht nur im fötalen Serum, sondern auch im Fruchtwasser und im mütterlichen Serum nachgewiesen werden. Beim AFP existiert ein Konzentrationsgradient: Wenn der AFP-Spiegel im fötalen Serum bei 2 000 kIU/ml liegt, so werden im Fruchtwasser (AFAFP) 20 kIU/ml und im mütterlichem Serum (MSAFP) 0,02 kIU/ml gemessen. In einer normalen Schwangerschaft können im fötalen Serum in der 14. Gestationswoche die höchsten Werte nachgewiesen werden.³⁴ Im Fruchtwasser sind in der 12. Gestationswoche und im mütterlichen Serum zwischen der 28. und 32. Gestationswoche die höchsten AFP-Konzentrationen zu finden.³⁶ Das Absinken der AFAFP-Konzentrationen spiegelt das Absinken des fötalen AFP wieder, was auf die Erhöhung des Fötusgröße und des Flüssigkeitsvolumens zurückzuführen ist.³⁴ Erhöhte MSAFP- und AFAFP-Werte werden meistens durch Mehrlingsschwangerschaften oder durch ein falsches Gestationsalter bedingt.

Die Bestimmung des AFP ist klinisch sehr wertvoll beim Screening zur Bestimmung eines offenen Neuralrohresdefektes und anderer fötaler Abnormitäten.³⁵ Schwangerschaften mit einem offenen Neuralrohrdefekt beim Fötus gehen mit erhöhten AFP-Werten einher. Durch Transudation entlang der exponierten Oberfläche des Fötus oder durch geschädigte Glomeruli gelangt überschüssiges AFP in das Fruchtwasser und in einem geringeren Ausmaß auch in das mütterliche Serum.^{35,37} Diese Bedingungen werden bei offenem Neuralrohrdefekt, offener Spina bifida,

Anenzephalie, Omphalozele und kongenitaler Nephrose gefunden.^{32,38} Erhöhte AFP Werte mütterlichen oder fötalen Ursprungs zeigen drohende Spontanaborte, fötalen Stress oder Tod, Oligohydramnie, Toxämie, Gastroschisis, Meckel Syndrom, Sacrococcygealteratom, Turner Syndrom und mütterliche hepatische oder onkologische Erkrankungen an.³⁵

Empfohlene Protokolle für das Screening des offenen Neuralrohrdefektes sind bereits publiziert worden.^{33,35} Basierend auf der Prävalenz für einen offenen Neuralrohrdefekt sollten die AFP-Cutoff-Werte für das mütterliche Serum und für die Amnionflüssigkeit auf das jeweilige Patientenkollektiv optimiert gewählt werden. Üblicherweise werden Vielfache des Medians von 2,0 oder 2,5 für MSAFP und AFAFP benutzt. Die optimale Zeit für ein Screening des MSAFP liegt zwischen der 16. und 18. Schwangerschaftswoche, obwohl ein Screening vor und nach dieser Periode auch effektiv ist. Erhöhte AFP-Werte sollten durch erneute Probenentnahme und -bestimmung verifiziert werden, um eine nur transiente AFP-Erhöhung auszuschließen.

Im allgemeinen wird die Ultrasonographie eingesetzt, um multiple Schwangerschaften auszuscheiden 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.³⁵

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 Neural-

rohrdefekt. 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 Amnionflüssigkeit 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 DPC Niederlassung bezogen werden.

Methodik

Der IMMULITE 2000 AFP ist ein Festphasen-, sequenzieller Zweischritt-Chemilumineszenz-, Immuno-Assay.

Inkubationszyklen: 2 × 30 Minuten.

Probengewinnung

Serum: Die Proben sollten in einfachen Röhrchen durch Punktion der Vene³¹ 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 hämolysierten Proben besteht die Möglichkeit einer unsachgemäßen Handhabung vor Eintreffen im Labor,

daher sind die Ergebnisse zurückhaltend zu interpretieren.

Ikterische oder grob kontaminierte Proben können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter Antikoagulantientherapie 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 AFP sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden.

Fruchtwasser: Die Gewinnung des Fruchtwassers erfolgt durch Amniozentese. Die Proben sollten durch einen erfahrenen Gynäkologen mittels aseptischer transabdominaler Amniozentese während des zweiten Trimesters der Schwangerschaft bei Frauen mit bestätigtem Gestationsalters gewonnen werden. Die Probe sollte zentrifugiert werden, wobei der klare Überstand bewahrt wird. Sowohl der Überstand als auch das Sediment sollte auf Blutzellen oder Hämoglobin untersucht werden, da bereits Spuren von fötalem Material die AFP-Konzentration der Probe erhöhen, womit die Probe für eine Analyse ungeeignet wird. Der Ursprung des fötalen Materials sollte mit Hilfe eines fötalen Hämoglobin-Tests bestimmt werden. Falls eine fötale Kontamination stattgefunden hat und der AFP-Wert erhöht ist, sollte eine neue Probe nach 7 bis 10 Tagen zur Evaluation entnommen werden. Eine Kontamination des Fruchtwassers mit mütterlichem Serum kann zu richtigen AFP-Werten führen, wenn das Ausmaß der Kontamination nicht so groß ist, dass es zur Verdünnung der Probe führt. In dieser Packungsbeilage bezieht sich *Fruchtwasser* auf den klaren Überstand des Fruchtwassers nach Zentrifugation.

Zeitpunkt. Es ist erforderlich, das Gestationsalter zu kennen, um die AFP-Ergebnisse bewerten zu können. Es wird empfohlen, Serumproben in der 16. bis 18. Woche zu entnehmen, Fruchtwasserproben in der 16. bis 20. Woche. Serumproben müssen vor der Amniozentese entnommen werden, da dieser Eingriff zu falsch erhöhten Werten im mütterlichen Serum für 2 bis 3 Wochen führen kann.

Erforderliche Menge

Serum: 10 µl.

Fruchtwasser: 10 µl der vorverdünnten Fruchtwasser-proben.

Verdünnungsfaktor (Fruchtwasser): Alle Fruchtwasser-Proben müssen vor dem Test zuerst automatisch mit dem Multi-Diluent 2,1:100 verdünnt werden. Dazu wählen Sie bitte 100 im Fenster "Verdünnungsfaktor".

Lagerung

Serum: 3 Tage bei 2–8°C oder bei –20°C (aliquotiert) gefrieren, wenn der Test nicht innerhalb von 3 Tagen durchgeführt wird.

Fruchtwasser: Fruchtwasser-Proben sollten bei –20°C aufbewahrt werden. Zur Vermeidung wiederholten Auftauens und Einfrierens empfiehlt es sich, Aliquots anzulegen. Vor der Testdurchführung sollten die Proben auf Raumtemperatur gebracht (15–28°C) und *vorsichtig* gemischt werden. Ein Auftauen der Proben durch Erhitzen im Wasserbad ist zu vermeiden. Zu transportierende Proben sind in Erwartung steigender Temperaturen (warmes Klima oder in der Sommerzeit) oder bei einer Transportdauer von über 72 Stunden in Trockeneis zu verpacken. Im Falle von Mehrfachuntersuchungen sollten die Originalproben verwendet werden, um kontante Ergebnisse zu gewährleisten.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *In-vitro*-Diagnostik.

Reagenzien: Bei 2–8°C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Bestimmten Komponenten wurde Natriumazid (<0,1 g/dl) hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu verhindern, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

Chemilumineszenz-Substratmodul: Kontaminationen sowie direkte Sonnenlichteinwirkungen müssen vermieden werden. (Siehe Packungsbeilage.)

Wasser: Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser benutzen.

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 Schiebedeckel 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 Set.

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

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

Multidiluent 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

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).

L2M2Z: 25 ml. **L2M2Z4:** 55 ml.

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluent) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16×100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.

L2M2Z: 3 Etiketten. **L2M2Z4:** 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

L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm) für die Probenverdünnung

L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

TMCO: Multikontrolle mit 3 Konzentrationen.

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 IMMULITE 2000-Handbuch beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Hinweise zur Vorbereitung, täglichen Inbetriebnahme des Systems, der Kalibrierung sowie Verfahren zur Test- und Qualitätskontrolle entnehmen Sie bitte dem IMMULITE 2000-Handbuch.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
4 Wochen.

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

Referenzwerte

AFP Werte bei Patienten mit Hodenkrebs

In Studien des Herstellers wurde basierend auf der Korrelation zum DPC IMMULITE AFP Assay (siehe Methodenvergleich) die nachfolgenden Referenzbereiche ermittelt.

Mit dem IMMULITE AFP der DPC wurde an zwei klinischen Zentren eine Referenzwertstudie mit 119 gesunden, erwachsenen Männern (Altersmedian 61 Jahre, 95% Vertrauensbereich: 27– 79 Jahre) durchgeführt. Die gemessenen Ergebnisse lagen im Bereich von 0,5 bis 5,5 IU/ml, bei einem Median von 1,6 IU/ml und einer 99% Percentile von 5 IU/ml.

Daneben wurden in dieser Studie auch Proben von Männern mit Hodentumoren, Patienten mit anderen malignen Erkrankungen (von Leber, Blase, Nieren, Pankreas, Lunge, Prostata und Darm), Patienten mit nicht malignen Erkrankungen (Leberzirrhose, Hepatitis B und C, Colitis ulcerosa, Emphysem, Darm und Analpolypen), sowie einiger gesunder weiblicher Probanden eingesetzt. Die Verteilung der Werte der verschiedenen Patientenkollektive ist der Tabelle zu entnehmen. Die Gesamtzahl der Probanden jedes Kollektives ist in Klammern angegeben.

IU/ml:	<5	5–15	15–100	>100
Männer				
Gesunde Männer (119)	118	1	—	—
Seminomatöses Hodenkarzinom (6)	6	—	—	—
Nicht-Seminomatöses Hodenkarzinom (60)	14	8	15	23
Leberkarzinom (10)	3	—	2	5
Andere maligne Erkrankungen (40)	36	1	—	3
Zirrhosen (4)	3	1	—	—
Hepatitis (24)	19	4	1	—
Andere Nicht-Maligne Erkrankungen (6)	5	—	—	1
Frauen				
Gesunde Frauen (29)	29	—	—	—
Maligne Krankheiten (20)	18	—	1	1
Nicht-Maligne Krankheiten (16)	15	—	1	—

Betrachten Sie diese Grenzwerte nur als Richtlinien. Jedes Labor sollte eigene Referenzbereiche ermitteln.

Für Patienten mit nicht-seminomatösen Hodentumoren können AFP-Werte innerhalb und oberhalb der dargestellten Verteilung für gesunde Männer beobachtet werden. Reine Seminome sind nicht mit erhöhten AFP-Spiegeln assoziiert. Trotzdem können bei Patienten mit gesicherten Seminomen erhöhte AFP-Spiegel gefunden werden zusätzlich Metastasen eines nicht-seminomatösen Hodentumors vorliegen.⁸

Ein signifikanter Anstieg der AFP-Konzentration bei Patienten mit vermeintlich nicht-metastasiertem Tumor kann ein Hinweis auf die Neubildung von Metastasen sein. Nach einer Operation erhöht bleibende AFP-Spiegel können durch Tumorrestgewebe oder eventuell

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.⁸⁻¹⁵

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.

Gesta- tions- woche	Proben- Nr.	Median IU/ml*	Vielfaches des 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	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.

Gesta- tions- woche	Proben- Nr.	Median kIU/ml*	Vielfaches des 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

* Log-Linearregression

Grenzen der Methode

Diagnose: Da erhöhte AFP-Spiegel außer bei nicht-seminomatösem 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 Serumkonzentrationen 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

einhergehen. Daneben können erhöhte AFP Konzentrationen auch in der Schwangerschaft, bei Louis-Bar-Syndrom (Ataxia teleangiectatica) und hereditärer Tyrosinämie auftreten.

Pränatale Tests: Bei pränatalen Screenings erfordert eine zuverlässige AFP-Evaluierung die exakte Bestimmung des Gestationsalters. Ein zu geringes Gestationsalter kann zu falsch positiven Resultaten führen, wohin gegen ein zu hoch eingeschätztes Gestationsalter zu einer falsch negativen Interpretation führen kann. Wenn das genaue Gestationsalter nicht sicher ist, empfiehlt sich zur Bestätigung eine Ultrasonographie durchzuführen.

Heterophile Antikörper in Humansenen können mit Immunglobulinen aus den Assaykomponenten reagieren und Interferenzerscheinungen innerhalb des in vitro Immunoassays verursachen. (Clin. Chem. 1988;34:27-33) Proben von Patienten, die häufig mit Tier- bzw. Tierserumprodukten zu tun haben, können die erwähnten Interferenzen verursachen und zu anomalen Resultaten führen. Die verwendeten Reagenzien sind so konzipiert, dass das Risiko einer Interferenz mit den zu messenden Proben minimiert ist. Dennoch können potentiell Interaktionen zwischen seltenen Seren und den Testkomponenten auftreten. Zu diagnostischen Zwecken sollten die mit dem Assay erhaltenen Ergebnisse immer in Kombination mit der klinischen Untersuchung, der Patientenanamnese und anderen Befunden gesehen werden.

Leistungsdaten

Siehe Tabellen und Grafiken mit *repräsentativen* Daten für den Assay. Die Ergebnisse sind als IU/ml ausgedrückt. (Alle Daten wurden – sofern nicht anders angegeben – aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Umrechnungsfaktor:

IU/ml × 1,21 → ng/ml

Messbereich: Bis 300 IU/ml (363 ng/ml) (WHO 1. IS 72/225).

Analytische Sensitivität: 0,2 IU/ml (0,24 ng/ml).

High-Dose-Hook-Effect: Bis 534 000 IU/ml keiner.

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Testansätzen in Doppelbestimmungen gemessen (insgesamt 40 Bestimmungen und 80 Einzelmessungen). (Siehe Tabelle "Precision".)

Linearität: Serum- und Fruchtwasser-Proben wurden in verschiedenen Verdünnungsreihen getestet. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle "Linearity".)

Wiederfindung: Die getesteten Serumproben waren mit drei AFP-Lösungen (286, 700 und 1 324 IU/ml) 1:20 versetzt. Die getesteten Fruchtwasser-Proben waren mit drei AFP-Lösungen (10 000, 20 000 und 36 000 IU/ml) 1:20 versetzt. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle "Recovery".)

Spezifität: Hochspezifischer AFP-Antikörper. (Siehe Tabelle "Specificity".)

Bilirubin (unkonjugiert): Basierend auf der Vergleichbarkeit der Meßergebnisse mit dem IMMULITE AFP-Test hat Bilirubin einen kleinen aber (t-Test) statistisch wesentlichen Effekt. (Siehe Tabelle "Bilirubin").

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 192 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Lipämie hat in Konzentrationen bis zu 3 000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Methodenvergleich – Studien mit

Hodenkarzinomen: Der Assay wurde auf der Basis von 205 Proben männlicher Patienten mit nicht seminomätem Hodenkarzinom in verschiedenen klinischen Stadien (prä- und postoperativ) mit dem DPC IMMULITE AFP Assay verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 0,3–280 IU/ml). Durch lineare Regression:

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

95%		
Vertrauensbereich	Slope	Intercept
niedrigster Wert	1,03	-0,51
höchster Wert	1,05	1,20

Methodenvergleich – Studie mit

Neuralrohrdefekten: In zwei separaten 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	2,68

(IML 2000) = 0,73 (Kit B) + 5,22 IU/ml
r = 0,97
n = 1 015

95%		
Vertrauensbereich	Slope	Intercept
niedrigster Wert	0,72	4,66
höchster Wert	0,74	5,79

In einer der oben aufgeführten Studien wurden die IMMULITE 2000 AFP Ergebnisse für Fruchtwasser-Proben in einer linearen Regression mit dem Kit B verglichen (Konzentrationsbereich: nicht nachweisbar bis 286 kIU/ml).*

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

95%		
Vertrauensbereich	Slope	Intercept
niedrigster Wert	0,77	1,78
höchster Wert	0,81	2,76

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

Der Assay wurde auch für Fruchtwasser-Proben im Konzentrationsbereich von etwa 3 bis 20 kIU/ml mit dem DPC IMMULITE AFP Assay verglichen. (Siehe Grafik.) Durch lineare Regression:

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

Mittelwerte
10,0 kIU/ml (IML)
10,8 kIU/ml (IML 2000)

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 DPC 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%		
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

Gesta- tions- woche	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	1 332	95,5%	98,6%	99,3%
95% CI* für alle Proben		94,2% – 96,5%	97,8% – 99,1%	98,7% – 99,7%

* Vertrauensbereich

Klinische Sensitivität für Fruchtwasser, n = 8:

Gestations- woche	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15 – 20	87,5%	87,5%	87,5%
95% CI* für alle Proben	47,3% – 99,7%	47,3% – 99,7%	47,3% – 99,7%

* Vertrauensbereich

Klinische Spezifität für Fruchtwasser:

Gesta- tions- woche	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% CI* für alle Proben		95,9% – 99,9%	97,9% – 100%	97,9% – 100%

* Vertrauensbereich

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre DPC Niederlassung.

Hergestellt von Euro/DPC Ltd. unter dem Qualitätssystem ISO 13485:2003.

Español

IMMULITE 2000 AFP

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico in vitro con el Analizador IMMULITE 2000 — para la medición cuantitativa de la Alfa-fetoproteína (AFP) en cualquiera de los siguientes contextos: (a) mediciones seriadas en suero humano para asistir en el manejo de pacientes con cáncer testicular no seminomatoso; o (b) mediciones en suero materno y líquido amniótico durante las 15° a la 20° semana de gestación, utilizado en conjunto con ecografía o amniografía, para asistir en la detección de defectos del tubo neural fetal abierto.

Números de Catálogo:

L2KAP2 (200 tests)

L2KAP6 (600 tests)

Código del Test: **AF** Color: **Gris claro**

Pueden encontrarse variaciones en las concentraciones de AFP en una muestra determinada realizadas con ensayos de diferentes distribuidores dependiendo de la metodología del ensayo y especificidad del reactivo. **Los resultados informados por el laboratorio al facultativo deben incluir la identificación del ensayo utilizado. Los valores de los resultados obtenidos con diferentes ensayos para AFP no son intercambiables.** Antes de cambiar de ensayos, el laboratorio debe: (a) para el manejo del cáncer: confirmar los valores de la línea de base para los pacientes que se están monitoreando serialmente; (b) para las pruebas prenatales: establecer un rango de valores normales para el nuevo ensayo basado en sueros y líquidos amnióticos normales de mujeres embarazadas cuya edad gestacional esté confirmada.

Resumen y Explicación del Test

La Alpha-fetoproteína (AFP) es una única cadena de glicoproteína con un peso molecular de aproximadamente 70 000 daltons. La AFP posee una considerable homología con la secuencia de la albúmina, y es producida por el feto principalmente en células del saco vitelino, tracto gastrointestinal e hígado. La AFP es la proteína sérica más abundante en el feto, pero su concentración decrece rápidamente después del nacimiento.^{1,2,3} La reaparición de elevadas concentraciones de AFP en el suero de adultos, ha sido observada no solo en el embarazo, sino también asociadas a diversas enfermedades tumorales benignas y malignas.

Cáncer testicular

Elevados niveles de AFP han sido observados, no solamente en pacientes con cáncer testicular no seminomatoso, sino también en pacientes con otras patologías tumorales como carcinoma

hepatocelular, cáncer de ovario, cáncer gastrointestinal y cáncer de pulmón.⁸⁻¹⁵ 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.⁸⁻¹⁵

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.^{9,16,18,19} Durante la quimioterapia, los pacientes con seminomas en estadios avanzados y con disfunción hepática también presentan elevada la AFP en suero.²⁰ 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 más adecuada.^{8,15,21}

La utilidad clínica de las determinaciones de AFP, están bien documentadas, en el seguimiento de pacientes con cáncer testicular no seminomatoso.^{9,16,17,18,22} La determinación de AFP tiene una importante aplicación clínica para evaluar la extensión de la enfermedad.^{18,22-26}

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.^{9,15,17,26,27} 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.^{9,15,26,29} Los cambios post-quirúrgicos de AFP requieren una precisa interpretación, a fin de considerar el ritmo al que decrece su metabolismo.^{21,22,24,25} 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 tumoral es aun evidente.^{17,21} En cuyo caso

es recomendable continuar con plan terapéutico.²¹

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.^{9,17,18} Elevados niveles de AFP han sido observados frecuentemente en tumores recurrentes antes de que la progresión de la enfermedad sea clínicamente evidente.^{9,18}

Defectos del tubo neural fetal abierto

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 2 000 kIU/ml, el nivel de la AFP en el líquido amniótico (AFAFP) 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.³⁴ La concentración de AFAFP 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.³⁶ La caída en la concentración de AFAFP refleja la caída en la concentración de AFP en el suero fetal, la cual resulta del incremento en el tamaño fetal y en el volumen del líquido amniótico.³⁴ El aumento en los niveles de MSAFP y de AFAFP puede ocurrir más frecuentemente como consecuencia de un embarazo múltiple y de que la edad gestacional es incorrecta.

La medición de las concentraciones de AFP es clínicamente valiosa para detectar defectos del tubo neural fetal abierto y otras anomalías fetales;³⁵ 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 glomérulos dañados.^{35,37} Estas condiciones se encuentran en los defectos del tubo neural abierto,

incluyendo espina bífida abierta y anencefalía, onfalocelo y nefrosis congénita.^{32,38} Otras causas de las concentraciones elevadas de AFP, incluyendo ambas fuentes materna y fetal, son los abortos espontáneos inminentes, el sufrimiento o la muerte fetal, el oligohidramnios, la toxemia, la gastrosquisis, el síndrome de Meckel, el teratoma sacrococcígeo, el síndrome de Turner y los trastornos hepáticos y oncológicos maternos.³⁵

Se han publicado protocolos recomendados para detectar la presencia de defectos del tubo neural abierto.^{33,35} Se puede elegir niveles límites para el suero materno y el líquido amniótico para optimizar las necesidades de las poblaciones a analizarse, sobre la base de una predominancia variable de defectos del tubo neural abierto. Los límites comúnmente utilizan múltiplos de la mediana de 2,0 o 2,5 para el análisis de MSAFP y AFAFP. El momento óptimo para detectar la MSAFP es entre la 16^o y la 18^o semana del embarazo, aunque la detección todavía es efectiva antes o después de este periodo. Las concentraciones de AFP que son elevadas pueden someterse a muestreo y análisis repetidos para excluir aumentos momentáneos.

Más comúnmente, la ecografía se utiliza para descartar la presencia de embarazos múltiples y confirmar la edad gestacional. La ecografía también puede identificar signos de defectos del tubo neural abierto, particularmente la anencefalía, la cual es una lesión grande y fácil de visualizar. Si la corrección de la edad gestacional o del embarazo múltiple no resulta en una concentración de AFP que está dentro del rango normal, entonces se indica el diagnóstico con ecografía y/o el muestreo de líquido amniótico. En los casos de una detección positiva de MSAFP, la combinación del análisis bioquímico del líquido amniótico y el diagnóstico ecográfico constituye el mejor recurso de diagnóstico.³⁵

Los resultados elevados de MSAFP no sirven para diagnosticar defectos del tubo neural y no deberán considerarse una causa para terminar el embarazo. Existe una superposición en la distribución de las concentraciones de AFP en los embarazos con y sin defectos del tubo

neural abierto. Por ejemplo, los defectos del tubo neural cerrado generalmente no están asociados con mayores concentraciones de MSAFP o AFAFP. Por lo tanto, es necesario realizar otras pruebas para definir el estado fetal. A la luz de estas consideraciones y de las múltiples causas del aumento en las concentraciones de AFP, se deberá evaluar toda la información clínica y, siempre que sea posible, deberán realizarse ensayos de confirmación antes de llegar a un diagnóstico.

La AFP puede medirse mediante varias técnicas inmunológicas, dependiendo del grado de sensibilidad que se desee. La inmunodifusión radial, la inmunoelectroforesis de contra corriente y la inmunoelectroforesis de cometa son tres técnicas muy adecuadas para el uso en investigación. Los análisis de inmunoabsorción ligados a enzimas y los radioinmunoensayos competitivos y no competitivos han sido empleados clínicamente en forma exitosa para las mediciones en suero materno y en líquido amniótico

Nota: El Catálogo para Médicos IMMULITE 2000 AFP (Cat. #ZS1105) y el Catálogo para Pacientes (Cat. #ZS1106), los cuales explican el uso de las pruebas prenatales de AFP para asistir en la detección de los defectos del tubo neural fetal abierto, pueden obtenerse contactando a su Distribuidor Nacional de DPC.

Principio del análisis

IMMULITE 2000 AFP es un ensayo secuencial inmunométrico quimioluminiscente en fase sólida.

Ciclos de incubación: 2 × 30 minutos.

Recogida de la muestra

Suero: Obtener sangre por venipuntura³¹ en tubos simples y separar el suero de las células lo antes posible. Para que las muestras sean válidas, estas deben tomarse antes de la amniocentesis.

Se recomienda el uso de una ultracentrífuga para aclarar las muestras lipémicas.

Las muestras hemolizadas podrían indicar una mala manipulación de la muestra antes de ser recibida por el laboratorio; en

este caso, los resultados deben interpretarse con precaución.

Las muestras ictericas o ampliamente contaminadas pueden dar resultados erróneos.

La centrifugación de las muestras de suero antes de que se forme el coágulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erróneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coágulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulación.

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 físicas, activadores de la coagulación 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 16^o y la 18^o semana gestacional para el suero y entre la 16^o y la 20^o 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.

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Reactivos: Mantener a 2–8°C. Desechar de acuerdo con las normas aplicables.

Siga las precauciones universales y manipule todos los componentes como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Los materiales derivados de sangre humana han sido analizados y son negativos para sífilis; para anticuerpos frente al HIV 1 y 2; para el antígeno de superficie de hepatitis B y para los anticuerpos de hepatitis C.

Se ha usado Azida sodica, en concentraciones menores de 0,1 g/dl, como conservante. Para su eliminación, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitución de residuos de azidas metálicas, potencialmente explosivas, en las cañerías de cobre y plomo.

Substrato quimioluminiscente: Evitar la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto).

Agua: Usar agua destilada o desionizada.

Materiales Suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

Cartucho de bolas de AFP (L2AP12)

Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpo monoclonal murino anti-AFP. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KAP2: 1 cartucho.

L2KAP6: 3 cartuchos.

Vial de reactivo de AFP (L2APA2)

Con códigos de barras. 11,5 ml de una solución tampón de proteína en una matriz de suero no humano; y 11,5 ml de fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con anticuerpos policlonales de conejo anti-AFP en solución tampón. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KAP2: 1 vial. **L2KAP6:** 3 viales.

Antes de usar, cortar la parte superior de la etiqueta en la perforación, sin dañar el código de barras. Quitar el precinto del orificio del vial; encajar la cubierta deslizante en las rampas de la tapa del reactivo.

Ajustadores de AFP (L2APJ3, L2APJ4)

Dos viales (bajo y alto), de 2,0 ml cada uno, de AFP en una matriz de suero bovino. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrirse, o hasta 6 meses (aliquotados) a –20°C.

L2KAP2: 1 juego. **L2KAP6:** 2 juegos.

Antes de hacer un ajuste, colocar las etiquetas a las alícuotas apropiadas (suministradas con el kit) sobre tubos de ensayo, de forma tal que los códigos de barras puedan ser leídos por el lector.

Componentes del kit que se suministran por separado

Multidiluyente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Para la dilución automatizada de muestras con alto contenido de suero y muestras de líquido amniótico. Un vial con código de barras de un concentrado listo para su uso de una matriz proteica no humana con conservantes. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrirse, o hasta 6 meses (aliquotados) a –20°C.

L2M2Z: 25 ml. **L2M2Z4:** 55 ml.

Se suministran etiquetas con códigos de barras para usarse con este diluyente.

Antes de uso, colocar la etiqueta con el código de barras en un tubo de ensayo de 16 x 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.

L2M2Z: 3 etiquetas.

L2M2Z4: 5 etiquetas.

El análisis del líquido amniótico requiere una dilución 1 en 101 de la muestra (dilución automatizada con el Multidiluyente 2).

L2SUBM: Substrato quimioluminiscente

L2PWSM: Lavado de sonda

L2KPM: Kit de limpieza de sonda

LRXT: Tubos de reacción (desechables)

L2ZT: 250 Tubos De Prueba Del

Diluyente De la Muestra (16 x 100 mm)

L2ZC: 250 Casquillos Del Tubo Del

Diluyente De la

TMCO: control multiconstituyente de tres niveles

También necesarios

Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles.

Ensayo

Aviso: para obtener el funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el manual del operador de IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del operador de IMMULITE 2000 para: la preparación, instalación, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:

4 semanas.

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

Valores Esperados

Valores de AFP en pacientes con cáncer testicular

Basado en su relación con el IMMULITE AFP de DPC (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 IU/ml, con una mediana de 1,6 IU/ml y un percentil 99° de 5 IU/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).

IU/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 sanos. En su forma pura, los seminomas no presentan niveles elevados de AFP en suero. Sin embargo, se han observado niveles elevados de AFP en pacientes diagnosticados con seminomas acompañados por metástasis de cáncer testicular no seminomatoso.⁸

Un aumento significativo en los niveles de AFP en los pacientes que se consideran libres de tumores metastásicos pueden indicar el desarrollo de metástasis. Niveles elevados después de la cirugía

pueden indicar que la remoción del tumor es incompleta o la presencia de metástasis.

Los niveles elevados de AFP en suero están asociados con las condiciones hepáticas benignas, como la hepatitis y la cirrosis. La mayoría de los pacientes (95%) que tienen enfermedades benignas tienen niveles de AFP menores de 200 ng/ml (165 IU/ml).^{8–15}

Valores de AFP en suero materno y líquido amniótico

Debido a la posible variación en los resultados de los análisis proporcionados por distintos laboratorios, se recomienda que el centro de análisis en particular determine su propio conjunto de medianas de AFP para la 15^ª a la 20^ª semana de gestación, medidas en la población a ser analizada. Los valores límites comúnmente utilizan múltiplos de las medianas (MoM) de 2,0 o 2,5 para el análisis de suero materno y de líquido amniótico. Cada resultado del ensayo para AFP puede luego expresarse como un múltiplo de la mediana de la población no afectada. Este se obtiene dividiendo el valor de AFP por la mediana para la semana gestacional correspondiente. Las semanas gestacionales se definen como semanas gestacionales completas; por ejemplo, 16 semanas y 6 días debe ser considerado como la semana número 16. Se ha recomendado que la mediana y los valores MoM determinados para cada semana gestacional se basen en por lo menos 100 sueros maternos y 50 líquidos amnióticos de embarazos individuales no afectados que tengan una edad gestacional confirmada.

A continuación se proporcionan valores de medianas para muestras de *suero materno* que fueron calculadas por una regresión lineal logarítmica ponderada, a partir de datos recogidos de embarazos individuales no afectados en tres clínicas en los Estados Unidos:

Semana gestacional	No. de muestras	Medianas IU/ml*	Múltiplos de las medianas obtenidas por regresión (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

*Por regresión

A continuación se proporcionan valores de medianas para muestras de *líquido amniótico* que fueron calculadas por una regresión lineal logarítmica ponderada a partir de datos de embarazos individuales no afectados en dos clínicas en los Estados Unidos:

Semana gestacional	No. de muestras	Medianas kIU/ml*	Múltiplos de las medianas obtenidas por regresión (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

* Por regresión

Limitaciones

Diagnóstico: La ocurrencia de niveles elevados de AFP en suero, en condiciones distintas al cáncer testicular no seminomatoso, excluye el uso de las determinaciones de AFP para el diagnóstico del cáncer testicular no seminomatoso.

Exploración selectiva: La determinación de AFP no puede recomendarse como un procedimiento de exploración selectiva para detectar cáncer en la población en general. Las concentraciones elevadas de AFP en suero no sólo han sido observadas en pacientes con cáncer testicular no seminomatoso, sino también en condiciones malignas como el carcinoma hepatocelular, cáncer de ovario y cáncer gastrointestinal y pulmonar. Las condiciones hepáticas benignas como la hepatitis viral aguda, hepatitis activa crónica y cirrosis pueden estar presentes con concentraciones elevadas de AFP en

suero. También se han observado concentraciones elevadas de AFP en suero durante el embarazo, en la ataxia-telangiectasia y en la tirosinemia hereditaria.

Análisis prenatal: La evaluación confiable de AFP para el análisis prenatal requiere la determinación precisa de la edad gestacional. Una subestimación de la edad gestacional puede producir una determinación positiva falsa, mientras que una sobreestimación 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 recogidas de pacientes con cáncer testicular.

Factor de Conversión:

IU/ml \times 1,21 \rightarrow 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 replicados. (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 1 324 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 3 000 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 de DPC en un total de 205 muestras provenientes de pacientes masculinos con diferentes estadios clínicos de **cáncer testicular no seminomatoso**, pre y posquirúrgico. (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

Intervalo de certeza del 95% (IC)	Pendiente	Intersección
Más bajo	1,03	-0,51
Alto	1,05	1,20

Comparación de los métodos –

Estudios de defectos del tubo neural: en dos estudios clínicos separados que se llevaron a cabo en los Estados Unidos, se compararon los resultados del IMMULITE 2000 AFP con dos ensayos legalmente comercializados (Kit A y Kit B) en una regresión lineal para muestras de **suero materno**, en un rango de no detectable a 300 IU/ml. Por regresión lineal

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

Intervalo de certeza del 95% (IC)	Pendiente	Intersección
Más bajo	0,89	0,94
Alto	0,93	2,68

(IML 2000) = 0,73 (Kit B) + 5,22 IU/ml
r = 0,97
n = 1 015

Intervalo de certeza del 95% (IC)	Pendiente	Intersección
Más bajo	0,72	4,66
Alto	0,74	5,79

En uno de los estudios anteriormente mencionados, los resultados del IMMULITE 2000 AFP también se compararon con el Kit B en una regresión lineal para muestras de **líquido amniótico**, en un rango de no detectable a 286 kIU/ml*.

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

Intervalo de certeza del 95% (IC)	Pendiente	Intersección
Más bajo	0,77	1,78
Alto	0,81	2,76

* El equipo IMMULITE 2000 diluyó automáticamente las muestras de líquido amniótico 1 en 101.

También se comparó el ensayo con el IMMULITE AFP de DPC en muestras de

líquido amniótico, en un rango de aproximadamente 3 a 20 kIU/ml*. (Ver el gráfico). Por regresión lineal:

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

Medias
 10,0 kIU/ml (IML)
 10,8 kIU/ml (IML 2000)

Intervalo de certeza del 95% (IC)	Pendiente	Intersección
Más bajo	0,93	-0,50
Alto	1,12	1,54

* El equipo IMMULITE 2000 diluyó automáticamente las muestras de líquido amniótico 1 en 101.

También se comparó el ensayo con el IMMULITE AFP de DPC en muestras de **suero materno**, en un rango de aproximadamente 10 a 120 IU/ml. Por regresión lineal:

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

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

Intervalo de certeza del 95% (IC)	Pendiente	Intersección
Más bajo	0,99	-0,60
Alto	1,03	0,91

Sensibilidad clínica para el suero materno, n = 9:

Semana de Gestacional	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15 – 20	100%	77,8%	66,7%
IC del 95% para todas las muestras	66,4% – 100%	40,0% – 97,2%	29,9% – 92,5%

Especificidad clínica para el suero materno:

Semana de Gestacional	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	1 332	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 Gestacional	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15 – 20	87,5%	87,5%	87,5%
IC del 95% para todas las muestras	47,3% – 99,7%	47,3% – 99,7%	47,3% – 99,7%

Especificidad clínica para el líquido amniótico:

Semana de Gestacional	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%

Asistencia técnica

Contáctese con su Distribuidor Nacional.

Fabricado por EURO/DPC Ltd. bajo un Sistema de Calidad acorde con la ISO 13485:2003.

Français

IMMULITE 2000 AFP

Domaine d'utilisation : diagnostic *in vitro* avec IMMULITE 2000 Analyzer – 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^{ème} et la 20^{ème} 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 homologues à celles de l'albumine. L'AFP est produite par le fœtus principalement dans les cellules du sac vitellin, du tractus

gastro-intestinal et du foie. L'AFP est la protéine sérique majeure chez le fœtus, sa concentration diminuant rapidement vers la naissance.^{1,2,3} La réapparition de concentrations élevées d'AFP dans le sérum d'adulte est observée non seulement pendant la grossesse mais également lors de certaines pathologies bénignes ou malignes.

Cancer testiculaire

Des taux élevés d'AFP ont été observés, non seulement chez des patients souffrant de cancer des testicules à l'exception des séminomes, mais aussi chez des patients présentant des carcinomes hépatocellulaires, des cancers de l'ovaire, des cancers gastro-intestinaux ou des poumons.⁸⁻¹⁵ L'AFP sérique est fréquemment augmentée dans certains troubles hépatiques bénins comme les hépatites virales aiguës, les hépatites chroniques et les cirrhoses. Au cours de la grossesse, on observe des taux élevés d'AFP en cas d'ataxie télangiectasie et de tyrosinémie héréditaire.⁸⁻¹⁵

Dans les séminomes primitifs, on n'observe pas d'élévation des concentrations d'AFP. Toutefois, des concentrations fortes d'AFP sérique ont été trouvées chez des patients atteints de séminomes accompagnés de métastases ne provenant pas du séminome.^{9,16,18,19} Pendant une chimiothérapie, on a également observé des taux élevés d'AFP chez des patients présentant des séminomes à un stade avancé et un dysfonctionnement hépatique.²⁰ L'interprétation d'une augmentation de la concentration d'AFP chez des patients atteints de séminomes demande une attention particulière et devrait aider le clinicien dans le choix d'un traitement approprié.^{8,15,21}

L'intérêt clinique du dosage de l'AFP dans le suivi de patients atteints de cancer testiculaire non séminomateux a été largement décrit dans la littérature.^{9,16,17,18,22} La mesure de l'AFP constitue une aide au suivi de l'évolution de la maladie.^{18,22-26}

Des dosages en série d'AFP sérique permettent d'évaluer l'efficacité des traitements chez des patients atteints de tumeurs testiculaires non séminomateuses.^{9,15,17,26,27} Dans les

diagnostics postopératoires, l'existence d'une tumeur résiduelle est fortement suggérée si le taux d'AFP ne retrouve pas sa valeur normale après l'intervention.^{9,15,28,29} L'interprétation précise des variations postopératoires d'AFP doit tenir compte de son taux de catabolisme.^{21,22,24,25} Dans le cas où l'AFP est utilisée pour suivre l'efficacité d'un traitement ou surveiller la réapparition de la maladie lors d'une chimiothérapie, il est important de se rappeler que les taux d'AFP chutent souvent rapidement pendant la chimiothérapie jusqu'à des valeurs normales alors que les tumeurs sont toujours visibles.^{17,21} Dans ce contexte, un arrêt de la thérapie planifiée a été fortement recommandée.²¹

Après traitement ou intervention chirurgicale, les dosages en série de l'AFP sont cliniquement utiles pour le suivi de la réapparition de la maladie chez des patients atteints de cancers testiculaires non séminomateux. En effet, il a été rapporté que les taux d'AFP augmentent fréquemment en cas de progression de la maladie et diminuent en cas de rémission.^{9,17,18} Des concentrations élevées d'AFP sont fréquemment obtenues lors de la réapparition d'une tumeur avant que celle-ci puisse être cliniquement observée.^{9,18}

Défaut de fermeture du tube neural chez le fœtus

Outre le sérum fœtal, l'alpha-fœtoprotéine est présente dans le liquide amniotique et le sérum maternel. Un gradient de concentration existe lorsque le taux d'alpha-fœtoprotéine dans le sérum fœtal est de 2 000 kUI/ml, le taux dans le liquide amniotique est de 20 kUI/ml et le taux dans le sérum maternel est de 0,02 kUI/ml. Lors d'une grossesse normale, la concentration d'alpha-fœtoprotéine dans le sérum fœtal atteint son taux maximal à la 14^{ème} semaine de gestation.³⁴ La concentration dans le liquide amniotique atteint son niveau maximal aux alentours de la 12^{ème} semaine et la concentration dans le sérum maternel entre la 28^{ème} et la 32^{ème} semaine de gestation.³⁶ La baisse de concentration d'alpha-fœtoprotéine dans le liquide amniotique reflète la baisse de concentration dans le sérum fœtal qui est due à l'augmentation de la taille du fœtus et

du volume du liquide.³⁴ Des taux élevés d'alpha-fœtoprotéine dans le sérum maternel et le liquide amniotique sont souvent observés en cas de grossesse multiple et d'âge de gestation incorrect.

La mesure des concentrations d'alpha-fœtoprotéine est utile en milieu clinique pour le dépistage de non-fermeture du tube neural et d'autres malformations fœtales.³⁵ Les grossesses liées à un défaut de fermeture du tube neural présentent des taux élevés d'alpha-fœtoprotéine. L'alpha-fœtoprotéine excédentaire atteint le liquide amniotique et, dans une moindre mesure, le sérum maternel, par transsudation à travers la surface exposée du fœtus ou à travers les glomérules endommagés.^{35, 37} Ces affections sont observées dans les anomalies du tube neural, y compris le *spina bifida* (non-fermeture du tube neural) et l'anencéphalie, l'omphalocèle et la néphropathie héréditaire.^{32,38} Les autres causes de concentrations élevées d'alpha-fœtoprotéine, tant de provenance maternelle que fœtale, sont l'avortement involontaire imminent, la souffrance fœtale ou la mort *in utero*, l'oligohydramnios, la toxémie, le laparochisis, le syndrome de Meckel, le tératome pelvien, le syndrome de Turner et les maladies hépatiques et oncologiques chez la mère.³⁵

Les protocoles recommandés pour le dépistage de non-fermeture du tube neural ont été publiés.^{33,35} Les taux d'inclusion pour le sérum maternel et le liquide amniotique peuvent être choisis en vue d'optimiser les besoins des populations testées en fonction de la prévalence des défauts de fermeture du tube neural. Pour les diagnostics du sérum maternel et du liquide amniotique, les limites utilisent habituellement des multiples de la médiane de 2,0 ou 2,5. La période comprise entre la 16^{ème} et la 18^{ème} semaine de grossesse est optimale pour le dépistage d'alpha-fœtoprotéine dans le sérum maternel, bien qu'un dépistage soit toujours possible avant ou après cette période. Des concentrations élevées d'alpha-fœtoprotéine peuvent être soumises à un contre-échantillonnage ou une contre-analyse afin d'exclure les augmentations transitoires.

L'échographie permet le plus souvent d'exclure les grossesses multiples et de confirmer l'âge de gestation. Elle est également utilisée pour détecter les anomalies du tube neural, en particulier l'anencéphalie qui est une grosse lésion facilement visible. Si la correction pour l'âge de gestation ou la grossesse multiple n'engendre pas une concentration d'alpha-fœtoprotéine dans la gamme normale, une échographie diagnostique et/ou un échantillonnage du liquide amniotique sont indiqués. Pour un diagnostic optimal en cas de résultats positifs pour le sérum maternel, il convient de combiner une analyse biochimique du liquide amniotique et une échographie diagnostique.³⁵

Des taux élevés d'alpha-fœtoprotéine dans le sérum maternel ne permettent pas de diagnostiquer une malformation du tube neural et ne peuvent pas justifier l'interruption de la grossesse. On observe un chevauchement dans les distributions de concentrations d'alpha-fœtoprotéine en présence ou non de défauts de fermeture du tube neural. Ces derniers ne sont, par exemple, pas habituellement liés à une augmentation des concentrations d'alpha-fœtoprotéine dans le sérum maternel ou le liquide amniotique. Il importe donc d'effectuer d'autres tests pour établir l'état du fœtus. Tenant compte de ces considérations et des causes multiples de concentrations élevées d'alpha-fœtoprotéine, toutes les informations cliniques doivent être examinées et des tests de confirmation effectués autant que possible avant d'aboutir à un diagnostic.

Plusieurs techniques immunologiques permettent de mesurer la concentration d'alpha-fœtoprotéine en fonction du degré de sensibilité souhaité. L'immunodiffusion radiale, l'immunoélectrophorèse à contre-courant et l'immunoélectrophorèse en fusée constituent des techniques bien adaptées aux applications de recherche. Les essais d'immuno-absorption enzymatique et les dosages radio-immunologiques de conception tant compétitive que non compétitive ont été utilisés avec succès en milieu clinique 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 prénataux 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 × 30 minutes.

Recueil des échantillons

Sérum : prélevez du sang par ponction veineuse³¹ dans des tubes lisses 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 lisses. 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 fœtale entraînera une augmentation de la concentration apparente d'alpha-fœtoprotéine et rendra le spécimen impropre à l'analyse. L'origine de la substance fœtale doit être déterminée par un test d'hémoglobine fœtale. En cas de contamination fœtale 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 16ème et la 18ème semaine, et entre la 16ème et la 20ème 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 pré-dilué de liquide amniotique.

Facteur de dilution du liquide amniotique : 100.

Tous les échantillons de liquide amniotique doivent être dilués au 1:101 à l'aide d'un Multi-Diluent 2 embarqué avant le dosage. Sélectionnez « 100 » dans la fenêtre « Facteur de dilution ».

Conditions de conservation

Sérum : 3 jours à +2°C/+8°C ou congeler à -20°C si le test n'est pas effectué dans les 3 jours.

Liquide amniotique : les échantillons de liquide amniotique doivent être conservés à une température de -20°C. Si nécessaire, aliquotez-les pour éviter des congélations et décongélations répétitives. Avant le dosage, amenez l'échantillon à température ambiante (15–28°C), et mélangez-le *délicatement* par brassage ou inversion. Ne décongelez pas les spécimens par réchauffement dans un bain d'eau. Si les échantillons doivent être postés, emballez-les dans de la glace carbonique si la durée du transport excède 72 heures ou en cas de températures ambiantes élevées comme, par exemple, dans les climats chauds. Si une contre-analyse est nécessaire, prélevez le type original de spécimen pour assurer la cohérence des résultats.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

Réactifs : conserver les réactifs à +2/+8°C. Eliminer les déchets conformément à la réglementation en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-HCV et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

Substrat chimiluminescent : éviter les contaminations et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

Eau : utiliser uniquement de l'eau distillée ou désionisée.

Matériel fourni

Les composants de la trousse ne peuvent être utilisés que conjointement. Les étiquettes à l'intérieur du coffret sont nécessaires au dosage.

Cartouche de billes AFP (L2AP12)

Avec code-barres. 200 billes revêtues d'un anticorps monoclonal murin anti-AFP. Stable à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption.

L2KAP2 : 1 cartouche.

L2KAP6 : 3 cartouches.

Cartouche à réactif AFP (L2APA2)

Avec code-barres. 11,5 ml d'un tampon de protéines/matrice de sérum non humain ; et 11,5 ml d'un réactif composé d'un anticorps polyclonal de lapin anti-AFP marqué à la phosphatase alcaline (provenant des intestins de veau) dans un tampon. Stable à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption.

L2KAP2 : 1 cartouche.

L2KAP6 : 3 cartouches.

Avant l'emploi, retirer la partie supérieure de l'étiquette au niveau des perforations en ayant soin de ne pas endommager le code-barres. Retirer le film protecteur situé sur la partie supérieure de la cartouche-réactif ; insérer le couvercle coulissant entre les glissières sur le dessus de la cartouche-réactif.

Ajusteurs AFP (L2APJ3, L2APJ4)

2 flacons d'ajusteurs "haut" et "bas" de 2 ml chacun contenant de l'AFP dans une matrice de sérum bovin. Stable à +2°C/+8°C pendant 30 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à -20°C.

L2KAP2 : 1 jeu. **L2KAP6** : 2 jeux.

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes en verre de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

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°C/+8°C pendant 30 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) 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-Diluent 2).

L2SUBM : Substrat chimiluminescent

L2PWSM : Solution de lavage

L2KPM : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

LRXT : **Godets** réactionnels (jetables)

L2ZT : 250 Tubes À essai De Diluant échantillon (16 × 100 mm)

L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

TMCO : Contrôle multiparamétrique à trois niveaux

Egalement 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 d'Utilisation IMMULITE 2000.

Se reporter au manuel d'utilisation de l'IMMULITE 2000 pour : la préparation, le démarrage du système, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé : 4 semaines.

Echantillons pour le contrôle de qualité :

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

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 de DPC (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 UI/ml, avec une médiane à 1,6 UI/ml et un 99^{ème} percentile à 5 UI/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).

UI/ml:	<5	5–15	15–100	>100
Hommes				
Hommes en bonne santé (119)	118	1	—	—
Cancer testiculaire séminomateux (6)	6	—	—	—
Cancer testiculaire non séminomateux (60)	14	8	15	23
Cancer hépatique (10)	3	—	2	5
Autres pathologies malignes (40)	36	1	—	3
Cirrhose (4)	3	1	—	—
Hépatite (24)	19	4	1	—
Autres pathologies non malignes (6)	5	—	—	1
Femmes				
Femmes en bonne santé (29)	29	—	—	—
Pathologies malignes (20)	18	—	1	1
Pathologies non malignes (16)	15	—	1	—

Utiliser ces valeurs à titre indicatif uniquement. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

Chez les patients atteints d'un cancer testiculaire non séminomateux, on peut s'attendre à ce que les valeurs de l'AFP soient comprises à la fois dans et au-dessus des valeurs de référence données pour des hommes adultes en bonne santé. Les séminomes purs ne s'accompagnent pas de taux d'AFP élevés dans le sérum. Néanmoins, on a pu observer des taux d'AFP élevés chez des patients diagnostiqués avec des métastases de cancers testiculaires non séminomateux.⁸

Une augmentation significative des taux de l'AFP chez des patients apparemment sans métastases peut indiquer le développement de celles-ci. Des taux postopératoires élevés peuvent révéler

une ablation incomplète de la tumeur ou la présence de métastases.

Les taux élevés d'AFP sérique sont fréquents lors de pathologies hépatiques bénignes telles que les hépatites ou la cirrhose. La plupart des patients (95%) atteint de ce type de pathologies bénignes ont des taux d'AFP inférieurs à 200 ng/ml (165 UI/ml).⁸⁻¹⁵

Valeurs d'alpha-fœtoprotéine dans le sérum maternel et le liquide amniotique

En raison des divergences possibles entre les essais effectués dans des laboratoires différents, il est recommandé qu'un centre d'essais particulier définisse sa propre échelle de valeurs médianes d'alpha-fœtoprotéine pour la période comprise entre la 15^{ème} et la 20^{ème} semaine de la gestation, mesurées dans la population à tester. Les valeurs d'inclusion comprennent habituellement des multiples des médianes (MoM) de 2,0 ou 2,5 pour les essais du sérum maternel et du liquide amniotique. Chaque résultat des essais d'alpha-fœtoprotéine peut alors être exprimé en un multiple de la médiane constante de la population. Ce résultat est obtenu en divisant la valeur d'alpha-fœtoprotéine par la valeur médiane pour la semaine de gestation correspondante.

Les semaines de gestation sont définies comme semaines de gestation complètes ; par exemple, 16 semaines et 6 jours seront considérés comme la 16^{ème} semaine. Il est recommandé que les valeurs médianes et MoM définies pour chaque semaine de gestation soient fondées sur au moins 100 sérums maternels et 50 liquides amniotiques issus de grossesses uniques non affectées dont l'âge de gestation a été confirmé.

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

Semaine de gestation	Nombre de spécimens	Médianes UI/ml*	Multiples de médianes par régression (UI/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

*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 kUI/ml*	Multiples de médianes par régression (kUI/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

*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 diagnostique 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 téléangiectasies 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 UI/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 :

UI/ml \times 1,21 \rightarrow ng/ml

Intervalle de linéarité : jusqu'à 300 UI/ml (363 ng/ml). (1^{re} IS 72/225 de l'OMS.)

Sensibilité analytique : 0,2 UI/ml (0,24 ng/ml).

Accoutumance aux doses élevées :

Aucun jusqu'à 534 000 UI/ml.

Précision : Les valeurs ont été établies à partir de doublets dosés dans deux séries différentes chaque jour pendant 20 jours soit au total 40 séries et 80 doublets. (Voir le tableau " Precision ".)

Test de dilution : Les échantillons de sérum et de liquide amniotique ont été dosés à des dilutions variées. (Voir le tableau " Linearity " pour des données représentatives.)

Test de récupération: Des échantillons sériques dilués au 1:20 avec trois solutions d'alpha-fœtoprotéine (286, 700 et 1 324 UI/ml) ont été dosés. Des échantillons amniotiques dilués au 1:20 avec trois échantillons amniotiques élevés (10 000, 20 000 et 36 000 UI/ml) ont également été dosés. (Voir le tableau " Recovery " pour des données représentatives.)

Spécificité : le test est hautement spécifique de l'AFP (Voir le tableau " Specificity ".)

Bilirubine (non-conjugué) : vu le rapport de ce dosage avec le test IMMULITE AFP, la bilirubine a un effet léger (par test-t) mais significatif du point de vue statistique. (Voir tableau "Bilirubin" sur l'étude du test IMMULITE AFP.)

Hémolyse : La présence d'hémoglobine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 192 mg/dl.

Lipémie : La présence de lipémie ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 3 000 mg/dl.

Comparaison de méthodes – études du

cancer testiculaire : Le test a été comparé au dosage IMMULITE AFP de DPC sur un total de 205 échantillons prélevés chez des sujets masculins au cours des différentes étapes cliniques pré et postopératoires du **cancer testiculaire non séminomateux**. (dont les concentrations allaient d'environ 0,3–280 UI/ml.) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 1,04 (IML) + 0,34 UI/ml
r = 0,998
n = 205

95% de l'intervalle de confiance (IC)	Pente	Interception
Inférieur	1,03	-0,51
Haut	1,05	1,20

Comparaison de méthodes – études des malformations du tube neural : dans deux études cliniques distinctes réalisées aux États-Unis, les résultats d'IMMULITE 2000 AFP ont été comparés à deux dosages légalement commercialisés (Coffret A et Coffret B) en régression linéaire pour les échantillons de **sérum maternel**, dans la gamme du non détectable à 300 UI/ml. Par régression linéaire :

(IML 2000) = 0,91 (Coffret A) + 1,81 UI/ml
 $r = 0,98$
 $n = 346$

95% de l'intervalle de confiance (IC)	Pente	Interception
Inférieur	0,89	0,94
Haut	0,93	2,68

(IML 2000) = 0,73 (Coffret B) + 5,22 UI/ml
 $r = 0,97$
 $n = 1\ 015$

95% de l'intervalle de confiance (IC)	Pente	Interception
Inférieur	0,72	4,66
Haut	0,74	5,79

Dans l'une des études ci-dessus, les résultats d'IMMULITE 2000 AFP ont également été comparés au Kit B en régression linéaire pour les échantillons de **liquide amniotique** dans la gamme du non détectable à 286 kUI/ml*.

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

95% de l'intervalle de confiance (IC)	Pente	Interception
Inférieur	0,77	1,78
Haut	0,81	2,76

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

Le dosage a également été comparé à IMMULITE AFP de DPC sur des

IMMULITE 2000 AFP (PIL2KAP-15, 2005-07-13)

échantillons de **liquide amniotique**, dans la gamme d'environ 3 à 20 kUI/ml*. (Voir le graphique). Par régression linéaire:

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

Moyennes
 10,0 kUI/ml (IML)
 10,8 kUI/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 de DPC sur des échantillons de **sérum maternel**, dans la gamme d'environ 10 à 120 UI/ml. Par régression linéaire :

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

Moyennes
 33,8 UI/ml (IML)
 34,3 UI/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	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
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	1 332	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. En France distribué par DPC France 90 bd National 92257 La Garenne-Colombes.

Fabriqué par EURO/DPC Ltd. dans le cadre d'un Système Qualité enregistré sous ISO 13485:2003.

Italiano

IMMULITE 2000 AFP

Uso: Per prove diagnostiche in vitro con l'analizzatore IMMULITE 2000 – per la misurazione quantitativa dell'Alfa-fetoproteina (AFP) nelle seguenti situazioni: (a) misurazioni seriali nel siero umano quale ausilio nella gestione di pazienti con cancro testicolare non seminomatoso; o (b) misurazioni nel siero materno e nel fluido amniotico durante le settimane di gravidanza dalla 15° alla 20° – utilizzate unitamente all'ecografia o all'amniografia – quale ausilio nell'identificazione dei difetti del tubo neurale aperto nel feto.

Codice: **L2KAP2** (200 test)
L2KAP6 (600 test)

Codice del Test: **AF**
Colore: **Grigio Chiaro**

La concentrazione di AFP in un dato campione determinata utilizzando dosaggi di differenti produttori, può variare a causa di differenze sia nei metodi di analisi che nella specificità dei reagenti. **I risultati comunicati dal laboratorio al medico devono includere la descrizione del tipo di test utilizzato. I valori ottenuti con dosaggi di AFP differenti non possono essere interscambiati.** Prima di cambiare dosaggio, il laboratorio deve: (a) per quanto riguarda il trattamento del cancro – confermare i valori di base per pazienti monitorati serialmente; (b) per i test prenatali – stabilire un range di valori normali per il nuovo dosaggio sulla base dei sieri normali e dei fluidi amniotici di donne gravide con età gestazionale confermata.

Riassunto e Spiegazione del Test

L'Alfafetoproteina (AFP) è una glicoproteina a catena singola con una massa molecolare di circa 70 000 dalton.

L'AFP presenta un'affinità alquanto accentuata nella sequenza con l'albumina, ed è prodotta dal feto principalmente nelle cellule del sacco vitellino, nel tratto gastrointestinale e nel fegato. L'AFP è una tra le maggiori proteine sieriche nel feto, ma la sua concentrazione decresce rapidamente in prossimità della nascita.^{1,2,3} E' stata osservata la comparsa di concentrazioni elevate di AFP nel siero di persone adulte non solo durante la gravidanza, ma anche in concomitanza con diverse malattie benigne e maligne.

Cancro dei Testicoli

Livelli elevati di AFP sono stati riscontrati non solo in pazienti con cancro testicolare non seminomatoso, ma anche in pazienti con altre patologie maligne quali carcinoma epatocellulare, carcinoma ovarico, gastrointestinale e polmonare.⁸⁻¹⁵ L'AFP nel siero si presenta frequentemente elevata anche in condizioni epatiche benigne quali epatite virale acuta, epatite cronica attiva e cirrosi. La gravidanza, l'ataxia telangiectasica e la tireosinemia ereditaria presentano in maniera analoga concentrazioni elevate di AFP.⁸⁻¹⁵

I seminomi, nella loro forma pura, non presentano concentrazioni elevate di AFP. Tuttavia, concentrazioni elevate di AFP nel siero sono state osservate in pazienti con carcinoma testicolare seminomatoso diagnosticato accompagnato da metastasi non seminomatose.^{9,16,18,19} Durante la chemioterapia, pazienti con seminoma avanzato e disfunzioni epatiche hanno presentato livelli elevati di AFP nel siero.²⁰ L'interpretazione di concentrazioni elevate di AFP in pazienti con seminoma richiede considerazioni particolari ed è utile al clinico nella scelta della terapia più idonea.^{8,15,21}

L'utilità clinica della misurazione dell'AFP quale ausilio nella gestione di pazienti con carcinoma testicolare non seminomatoso è ben documentata.^{9,16,17,18,22} La misurazione dell'AFP ha trovato applicazione clinica per la determinazione dello stadio della malattia.^{18,22-26}

E' stato dimostrato che misurazioni seriali di AFP riflettono l'efficacia dei trattamenti terapeutici in pazienti con tumori testicolari non seminomatosi.^{9,15,17,26,27} Le determinazioni post chirurgiche dell'AFP

hanno un'importanza rilevante. Si presume la presenza di tumori residui se le concentrazioni post-operatorie di AFP non ritornano alla normalità dopo l'intervento.^{9,15,28,29} Nell'interpretazione delle concentrazioni post-operatorie e' importante valutare la velocità della diminuzione dei valori.^{21,22,24,25} 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.^{17,21} In tali circostanze, si consiglia il completamento della terapia pianificata.²¹

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.^{9,17,18} Livelli elevati di AFP sono stati spesso osservati in associazione alla recidiva tumorale prima ancora che la malattia fosse clinicamente evidente.^{9,18}

Difetti del Tubo Neurale Aperto nel Feto

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 2 000 kIU/mL, il livello di AFP nel liquido amniotico (AFAFP) 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.³⁴ La concentrazione di AFAFP raggiunge un picco intorno alla 12^a settimana e la MSAFP raggiunge un picco intorno alla 28^a-32^a settimana di gravidanza.³⁶ La caduta delle concentrazioni di AFAFP riflette la caduta delle concentrazioni di AFP nel siero fetale quale conseguenza delle accresciute dimensioni fetali e di un aumento nel volume del liquido.³⁴ Livelli elevati di MSAFP e di AFAFP possono verificarsi spesso in seguito a gravidanze multiple e ad età gestazionale non corretta.

La misurazione delle concentrazioni di AFP è clinicamente valida nello screening dei Difetti del Tubo Neurale Aperto e di altre anomalie fetali;³⁵ gravidanze associate a Difetti del Tubo Neurale 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.^{35, 37} Queste condizioni vengono riscontrate nei Difetti del Tubo Neurale Aperto inclusa la Spina Bifida e l'Anencefalia, l'Omfalocele e la Nefrosi Congenita.^{32,38} Altre cause di concentrazioni elevate di AFP incluse sorgenti materne e fetali sono cause di aborto spontaneo, problemi fetali o morte del feto, Oligoidramnios, Tossiemia, Gastroschisi, Sindrome di Meckel, Teratoma Sacrococcigeo, Sindrome di Turner, e disturbi epatici ed oncologici della madre.³⁵

Sono stati pubblicati i protocolli consigliati per lo screening dei Difetti del Tubo Neurale Aperto.^{33,35} 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'AFAP. Il momento ottimale per l'effettuazione dello screening dell'MSAFP è tra la 16° e la 18° 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.

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.³⁵

Risultati elevati di MSAFP non sono diagnostici per i Difetti del Tubo Neurale e non devono essere considerati un parametro per la determinazione di gravidanza. Esiste una sovrapposizione nella distribuzione delle concentrazioni di AFP da gravidanze con e senza Difetti del Tubo Neurale Aperto. Difetti del Tubo Neurale Chiuso, ad esempio, non sono normalmente associati con livelli accresciuti di MSAFP o concentrazioni di AFAP. Quindi, sono necessari ulteriori test per definire lo stato del feto. Alla luce di queste considerazioni e delle cause multiple di concentrazioni elevate di AFP, devono essere valutate tutte le informazioni cliniche e devono essere effettuati dove possibile test di conferma.

L'AFP può essere misurata attraverso diverse tecniche immunologiche in relazione al grado di sensibilità desiderata. L'immunodiffusione radiale, l'immunolettroforesi controcorrente e l'immunolettroforesi a razzo sono tre tecniche idonee per applicazioni di ricerca. I dosaggi immunoassorbenti enzima-legati ed i radioimmunosaggi di tipo competitivo e non competitivo sono stati utilizzati con successo clinico sia per determinazioni su siero materno che su liquido amniotico.

Nota: il Depliant illustrativo per il Medico sull'AFP IMMULITE 2000 (Cat.#ZS1105) ed il depliant per il Paziente (Cat. #ZS1106), con la spiegazione dell'utilizzo dell'AFP nei test prenatali quale ausilio nell'identificazione dei Difetti del Tubo Neurale Aperto sono disponibili presso la DPC telefonando al Customer Service 1-800-372-1782 o telefonando al Vostro Distributore Nazionale.

Principio del Dosaggio

Il dosaggio IMMULITE 2000 AFP è un dosaggio immunometrico sequenziale a due siti in chemiluminescenza in fase solida

Cicli d'incubazione: 2 × 30 minuti.

Prelievo dei Campioni

Siero: Effettuare il prelievo di sangue³¹ in provette semplici e separare il siero dalle cellule prima possibile. I campioni devono

essere ottenuti prima dell'amniocentesi per ottenere un campione idoneo al test.

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

I campioni emolizzati possono indicare il trattamento non idoneo del campione prima dell'arrivo al laboratorio; per questo motivo, i risultati devono essere interpretati con prudenza.

I campioni itterici o grossolamente contaminati possono produrre risultati errati.

La centrifugazione dei campioni di siero prima che la coagulazione sia completa può produrre fibrina. Per evitare risultati errati dovuti alla presenza di fibrina, assicurarsi che il processo di coagulazione sia completo prima di centrifugare i campioni. Alcuni campioni, in modo particolare quelli di pazienti sottoposti a terapia con anticoagulanti, possono richiedere tempi di coagulazione più lunghi.

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. L'IMMULITE 2000 AFP non è stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette.

Liquido Amniotico: raccogliere il liquido amniotico attraverso l'amniocentesi in provette semplici. I campioni devono essere ottenuti attraverso amniocentesi asettica transaddominale effettuata da un'ostetrica esperta durante il secondo trimestre di gravidanza in donne con età gestazionale confermata. Centrifugare il campione conservando una parte del sovranatante chiaro. Ispezionare sia il sovranatante che il sedimento per segni di ematuria, o emoglobina, poiché la contaminazione da parte di materiale fetale provocherà un innalzamento nella concentrazione di AFP nel campione, rendendolo non idoneo al test. Deve essere determinata l'origine del materiale fetale attraverso un test dell'emoglobina. Se si è verificata contaminazione fetale e la concentrazione di AFP risulta elevata, occorre prelevare un ulteriore campione da 7 a 10 giorni dopo per l'effettuazione del test. La contaminazione del liquido amniotico attraverso il siero materno può riflettere livelli accurati di AFP se il grado

di contaminazione non è sufficiente a diluire il campione. Di conseguenza, in questo dosaggio, il *liquido amniotico* fa riferimento al supernatante chiaro ottenuto 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° alla 18° settimana per il siero, dalla 16° alla 20° settimana per il liquido amniotico. I campioni di siero devono essere prelevati prima dell'amniocentesi 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 prediluito 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 termostato. 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 (L2APA2)

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.

Aggiustatori AFP (L2APJ3, L2APJ4)

Due fiale (basso ed alto), ciascuno con 2,0 mL di AFP in una matrice di siero bovino. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, e per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

L2KAP2: 1 set. **L2KAP6:** 2 set.

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste sulle provette delle aliquote (fornite col kit) cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore.

Componenti del Kit Forniti Separatamente

Multidiluyente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Per la diluizione interna di campioni elevati di siero e campioni di liquido amniotico. Un flacone di tampone proteico non umano concentrato (pronto all'uso) con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, e per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

L2M2Z: 25 mL. **L2M2Z4:** 55 mL.

Vengono fornite le etichette da utilizzarsi con il Diluyente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta su una provetta 16 × 100 mm cosicché i codici a barre possano essere letti dal lettore interno.

L2M2Z: 3 etichette.

L2M2Z4: 5 etichette.

L'analisi del liquido amniotico richiede una diluizione del campione 1:101 (diluizione interna con il Multi-Diluyente 2).

L2SUBM: Substrato Chemiluminescente

L2PWSM: Tampone di Lavaggio dell'Ago

L2KPM: Kit di Pulizia dell'Ago

LRXT: Tubi di Reazione (monouso)

L2ZT: 250 Provette (16 x 100 mm) per Diluyente del Campione

L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluyente del Campione

TMCO: Controllo multicostituito a tre livelli.

Materiali richiesti

Acqua distillata o deionizzata; provette di vetro; controlli.

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per prestazioni ottimali, è importante effettuare le procedure di

manutenzione di routine cosiccome definito nel Manuale dell'Operatore IMMULITE 2000.

Vedi Manuale dell'Operatore IMMULITE 2000 per: preparazione, messa a punto, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato:
4 settimane.

Campioni per il Controllo di Qualità:
Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (Alto e Basso) di AFP.

Valori Attesi

Valori di AFP in pazienti con Cancro dei Testicoli

Data l'affinità con l'AFP IMMULITE della DPC (vedi "Confronto di Metodi") ci si attende che il dosaggio abbia gli stessi range di riferimento.

In uno studio effettuato in due cliniche differenti, sono stati trattati, con il dosaggio IMMULITE AFP, 119 campioni di siero prelevati da uomini in apparente buona salute (età media: 61 anni; 95°ile: da 27 a 79 anni). I risultati hanno indicato un range da 0,5 a 5,5 IU/mL, con un valore mediano di 1,6 IU/mL e un 99° dato percentile di 5 IU/mL.

Lo studio comprendeva inoltre uomini colpiti da cancro testicolare; pazienti con altri tumori maligni (al fegato, vescica, reni, pancreas, polmoni, prostata e colon); pazienti con malattie non maligne (quali cirrosi, epatite B e C, colite ulcerosa, enfisema, polipi al colon e al retto); ed alcune donne in apparente buona salute. La distribuzione dei risultati con il dosaggio IMMULITE 2000 AFP è indicata qui di seguito (con il numero totale per ciascun gruppo in parentesi).

IU/mL:	<5	5–15	15–100	>100
Uomini				
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	—	—
Epatite (24)	19	4	1	—
Altre Patologie Non Maligne (6)	5	—	—	1
Donne				
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.⁸

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).⁸⁻¹⁵

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 mediani per le settimane gestazionali dalla 15° alla 20° testati nella popolazione su cui effettuare lo screening. I valori di cutoff comunemente utilizzano multipli delle mediane (MoM) di 2,0 o 2,5 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 mediani 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 mediani 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	Mediane IU/mL*	Multipli delle Mediane Regresse (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 mediani 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.

Sett. Di Gestazione	No. di campioni	Mediane kIU/mL*	Multipli delle Mediane Regresse (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

*Valori Regressi

Limiti

Diagnosi: Il verificarsi di livelli elevati di AFP nel siero in malattie differenti dal cancro testicolare non seminomatoso impedisce l'uso di misurazioni di AFP nella diagnosi del cancro testicolare non seminomatoso.

Screening: Non si consiglia di dosare l'AFP quale procedura di screening per la rilevazione del cancro nella popolazione. Elevate concentrazioni di AFP nel siero sono state notate non solo in pazienti colpiti da cancro testicolare non seminomatoso, ma anche con tumori maligni quali il carcinoma epatocellulare, il cancro delle ovarie ed il cancro gastrointestinale e polmonare. Malattie benigne del fegato quali l'epatite virale acuta, l'epatite cronica e la cirrosi possono presentare concentrazioni elevate di AFP nel siero. Le stesse concentrazioni sono state osservate in gravidanza, nell'atassia telangiectasica e nella tirosinemia ereditaria.

Test Prenatale: Una valutazione attendibile dell'AFP come test prenatale richiede una determinazione precisa dell'età gestazionale. Una sottostima dell'età gestazionale può portare alla determinazione di falsi positivi, mentre la sovrastima può determinare un'interpretazione dei risultati come falsi negativi. Quando l'età gestazionale è incerta si consiglia la conferma attraverso ecografia.

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi in vitro. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-

33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedi tabelle e grafici per dati *rappresentativi*. I risultati sono indicati in IU/mL. Se non diversamente indicato, tutti i valori sono stati generati da campioni di siero raccolti da pazienti con cancro dei testicoli.

Fattore di Conversione:

IU/mL × 1,21 → ng/mL

Range di Calibrazione: Fino a 300 IU/mL. (363 ng/mL) (WHO 1° IS 72/225.)

Sensibilità Analitica: 0,2 IU/mL (0,24 ng/mL).

Effetto Gancio a Dosi Elevate: Nessun effetto fino a 534 000 IU/mL.

Precisione: Sono stati dosati 7 campioni in doppio in 20 giorni, due sedute al giorno, per un totale di 40 sedute ed 80 replicati. (Vedere la Tabella "Precision".)

Linearità: I campioni di siero e quelli di liquido amniotico sono stati dosati a varie diluizioni (Vedere la Tabella "Linearity" per i dati rappresentativi.)

Recupero: Sono stati dosati 1-in-20 campioni di siero cui sono state aggiunte 3 soluzioni di AFP (286, 700 e 1 324 IU/mL) Sono stati dosati 1-in-20 campioni elevati di liquido amniotico cui sono state aggiunte 3 soluzioni di AFP (10 000, 20 000 e 36 000 IU/mL). (Vedere Tabella "Recovery" per i dati rappresentativi.)

Specificità: Il dosaggio è estremamente specifico per l'AFP (Vedere la Tabella "Specificity".)

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 "Bilirubin" 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 3 000 mg/dL non ha nessun Effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Comparazione di Metodi – Studi sul

Cancro dei Testicoli: La prova è stato paragonato all'IMMULITE AFP della DPC 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 = 1 015

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 DPC IMMULITE su campioni di **liquido amniotico** nel range approssimativamente 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 DPC 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
 $r = 0,982$
 $n = 346$

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

95% Intervallo di Confidenza (CI)	Curva	Intercetta
Inferiore	0,99	-0,60
Superiore	1,03	0,91

Sensibilità Clinica per Campioni di Siero Materno $n = 9$:

Settimana di Gestazione	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15 – 20	100%	77,8%	66,7%
95% CI per tutti i Campioni	66,4% – 100%	40,0% – 97,2%	29,9% – 92,5%

Specificità Clinica per Campioni di Siero Materno:

Sett. di Gestazione	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	1 332	95,5%	98,6%	99,3%
95% CI per tutti i Campioni		94,2% – 96,5%	97,8% – 99,1%	98,7% – 99,7%

Sensibilità Clinica per Campioni di Liquido Amniotico $n = 8$:

Settimana di Gestazione	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15 – 20	87,5%	87,5%	87,5%
95% per tutti i Campioni	47,3% – 99,7%	47,3% – 99,7%	47,3% – 99,7%

Specificità Clinica per Campioni di Líquido Amniotico:

Sett. di Gestazione	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% per tutti i Campioni		95,9% – 99,9%	97,9% – 100%	97,9% – 100%

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore DPC Nazionale.

Prodotto dalla EURO/DPC Ltd. nell'ambito di un Sistema di Qualità Certificato ISO 13485:2003.

Português

IMMULITE 2000 AFP

Utilização pretendida: Uso do diagnóstico *in vitro* com o IMMULITE 2000 Analyzer – para obter a medida quantitativa de alfa-fetoproteína (AFP) em qualquer um dos seguintes contextos: (a) medição em série no soro humano para ajudar no controlo de pacientes com cancro dos testículos não seminomatoso; ou (b) medição no soro materno e líquido amniótico entre a 15ª e 20ª semana de gestação – usado conjuntamente com ecografia ou amniografia – para ajudar a detectar defeitos na abertura do tubo neural do feto.

Números de catálogo:

L2KAP2 (200 testes)

L2KAP6 (600 testes)

Código do teste: **AF** Cor: **Cinzentos claro**

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.^{1,2,3} 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.⁸⁻¹⁵ 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 tirosinémia também têm sido apresentadas com elevadas concentrações de AFP.⁸⁻¹⁵

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.^{9,16,18,19} Durante a quimioterapia, pacientes com seminoma avançado e disfunção hepática também apresentam valores elevados de AFP no soro.²⁰ A interpretação de valores elevados de AFP em pacientes com seminoma requer consideração especial e deveria ajudar o médico na selecção da terapêutica apropriada.^{8,15,21}

Doseamentos periódicos de AFP têm demonstrado eficácia no regime terapêutico de pacientes com tumores testiculares diferentes de seminoma.^{9,15,17,26,27} 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.^{9,15,28,29} Uma interpretação exacta de alterações na concentração de AFP pós-operatória requer considerações sobre o decréscimo do metabolismo desta glicoproteína.^{21,22,24,25} Quando se utiliza AFP para monitorização terapêutica ou recorrência 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.^{17,21} Em tais circunstâncias, tem sido recomendado a continuação da terapêutica.²¹

Após terapêutica ou cirurgia, os doseamentos periódicos de AFP têm demonstrado utilidade clínica quando se pretende monitorizar a progressão ou recorrência 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.^{9,17,18} Valores elevados de AFP têm sido frequentemente associados a recorrências tumorais antes da doença progressiva ser clinicamente evidente.^{9,18}

Defeitos na abertura do tubo neural do feto

A AFP é detectável não apenas no soro do feto, mas também no líquido amniótico e soro materno. Existe uma concentração niveladora tal que quando o nível de AFP no soro do feto é de 2 000 kIU/mL, o nível de AFP (AFAFP) no líquido amniótico é de 20 kIU/mL, e a AFP (MSAFP) no soro materno é de 0,02 kIU/mL. Numa gravidez normal, a concentração de AFP no soro do feto atinge o nível máximo na 14^a semana de gestação.³⁴ A concentração de AFAFP atinge o nível máximo cerca das 12 semanas e o MSAFP atinge o nível máximo entre as 28 e as 32 semanas de gestação.³⁶ A queda na concentração de AFAFP reflecte a queda na concentração de AFP no soro do feto a qual resulta do aumento do tamanho do feto e volume do líquido.³⁴ Níveis elevados de MSAFP e AFAFP podem ocorrer com mais frequência devido a gravidezes múltiplas e devido a uma idade de gestação incorrecta.

A medição das concentrações de AFP é clinicamente valiosa no rastreio de NTDs abertos e outras anormalidades do feto;³⁵ as gravidezes associadas a NTDs abertos apresentam elevados níveis de AFP. O excesso de AFP ganha acesso ao líquido amniótico e, em menor escala, ao soro materno, por transudação através da superfície exposta do feto ou através de um glomérulo danificado.^{35,37} Estas condições encontram-se em NTDs abertos incluindo spina bifida aberta e anencefalia, onfalocelo, e nefrose congénita.^{32,38} Causas adicionais de concentrações elevadas de AFP incluindo tanto fontes maternas como do feto são eminência de aborto espontâneo, indisposição ou morte do feto, oligoâmnios, toxemia, gastroschisis, síndrome de Meckel, teratoma sacrococcígeo, síndrome de Turner e doenças hepáticas e oncológicas maternas.³⁵

Foram publicados os protocolos recomendados para o rastreio do NTD aberto.^{33,35} Os níveis limite para soro materno e líquido amniótico podem ser escolhidos para otimizar as necessidades das populações a serem testadas com base na prevalência variada de NTDs abertos. Geralmente, os limites utilizam múltiplos da média de 2,0 ou 2,5

para testes de MSAFP e AFAFP. A melhor altura para rastreio da MSAFP é entre a 16ª e a 18ª semana de gravidez, apesar do rastreio ainda ser eficaz antes ou depois deste período. As concentrações elevadas de AFP podem estar sujeitas a repetição de amostras e análises para excluir aumentos transitórios.

Geralmente, a ecografia é usada para excluir gravidezes múltiplas e para confirmar a idade gestacional. A ecografia também pode identificar sinais de NTDs abertos, particularmente anencefalia, a qual é uma lesão extensa, facilmente visível. Se a correcção da idade gestacional ou gravidezes múltiplas não resultar numa concentração de AFP dentro dos limites normais, então recomenda-se o diagnóstico por ecografia e/ou por amostra do líquido amniótico. O melhor diagnóstico pode ser atingido combinando a análise bioquímica do líquido amniótico e a ecografia no caso de um resultado positivo no rastreio de MSAFP.³⁵

A obtenção de resultados com valores elevados de MSAFP não são diagnóstico para NTDs e não devem ser considerados razão para terminar a gravidez. Existe uma sobreposição nas distribuições das concentrações de AFP tanto em gravidezes com como em gravidezes sem NTDs abertos. Os NTDs fechados, por exemplo, não estão geralmente associados a concentrações aumentadas de MSAFP ou AFAFP. Daí serem necessários mais testes para definir a situação do feto. Em face destas considerações e das várias razões para altas concentrações de AFP, todas as informações clínicas devem ser avaliadas e devem ser efectuados testes confirmatórios sempre que possível, antes de se chegar a um diagnóstico.

A AFP pode ser medida através de várias técnicas imunológicas, dependendo do nível de sensibilidade desejado. A imunodifusão radial, imunolectroforese contra-corrente e imunolectroforese "rocket" são três técnicas adequadas para aplicações de pesquisa. Os ensaios imunosorventes ligados a enzimas e radioimunoanálises de formatos competitivos e não competitivos têm sido ambos usados clinicamente com êxito

tanto 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 seqüencial do dois-local.

Ciclos de incubação: 2 x 30 minutos.

Colheita

Soro: Recolha sangue por flebotomia³¹ 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 à 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. Centrifugue o espécimen, retendo uma porção do flutuante transparente. Inspeccione tanto o flutuante 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 flutuante 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-Diluyente 2 antes do ensaio. Selecione 100 na janela do Factor de Diluição.

Estabilidade

Soro: 3 dias a 2–8°C, ou congelar a –20°C se não for doseado em 3 dias.

Líquido Amniótico: As amostras de líquido amniótico devem ser armazenadas a –20°C. Aliquite se for necessário para evitar repetição da congelação e descongelação. Deixe que a amostra fique à temperatura ambiente (15–28°C) antes do ensaio, e mexa com movimentos circulares suaves ou de inversão. Não tente descongelar os espécimens aquecendo-as em banho-maria. Se os espécimens forem enviados pelo correio, as amostras devem ser armazenadas em dry ice se o tempo de transporte exceder 72 horas, ou se as temperaturas elevadas forem motivo de preocupação, como acontece nos climas quentes ou durante o Verão. Se for necessário repetir a análise, deve ser usado o tipo original do espécimen para manter a consistência dos resultados.

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as leis aplicáveis.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas, obtidas de soro humano, foram testadas, revelando resultados negativos para a sífilis, para os anticorpos do vírus da imunodeficiência humana (HIV) 1 e 2; para o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e para os anticorpos do vírus da hepatite C.

Azida de sódio foi adicionada como conservante; para evitar acumulações de azidas metálicas explosivas em canalizações de cobre e alumínio, os reagentes devem ser rejeitados no esgoto apenas se estiverem diluídos e forem lavados com grandes volumes de água.

Substrato quimioluminescente: Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula do substrato).

Água: Utilize água destilada ou desionizada.

Materiais fornecidos

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. As etiquetas no interior das caixas são necessárias para o ensaio.

Embalagem de pérolas de AFP (L2AP12)

Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com anticorpo monoclonal de rato anti-AFP. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KAP2: 1 embalagem.

L2KAP6: 3 embalagens.

Embalagem de reagentes de AFP (L2APA2)

Com código de barras. Contém 11,5 mL de proteína em tampão/ matriz de soro não humano; e 11,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugado com policlonal de coelho anti-AFP, em tampão. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KAP2: 1 embalagem.

L2KAP6: 3 embalagens.

Antes de utilizar, retire a parte superior da etiqueta na perfuração, sem danificar o código de barras. Remova o selo de alumínio do topo da embalagem, e encaixe a tampa deslizante nas rampas da tampa do reagente.

Ajustes AFP (L2APJ3, L2APJ4)

Contém dois frascos (nível alto e baixo), 2,0 ml cada, de AFP em matriz de soro bovino. Estável a 2–8°C por 30 dias após abertura, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

L2KAP2: 1 conjunto.

L2KAP6: 2 conjuntos.

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas de alíquota apropriadas (fornecidas com o "kit") em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Multidiluyente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Para a diluição on-board das amostras com elevado teor de soro e das amostras de líquido amniótico. Um frasco, de concentrado (pronto a usar) constituído por uma matriz baseada em proteína não humana, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

L2M2Z: 25 mL. **L2M2Z4:** 55 mL.

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

Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.

L2M2Z: 3 etiquetas. **L2M2Z4:** 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 reacção (descartáveis).

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

L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluyente da amostra

TMCO: Controlo multiparamétrico de três níveis.

Também necessário

Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos.

Procedimento do doseamento

Têr em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador do IMMULITE 2000.

Consulte o Manual do Operador de IMMULITE 2000 para para instruções sobre preparação, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável: 4 semanas.

Amostras de controlo de qualidade:

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

Valores de Referência

Níveis de AFP em pacientes com cancro dos testículos

Baseado na sua relação com a AFP IMMULITE da DPC (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).

IU/mL:	<5	5–15	15–100	>100
Homens				
Homens Saudáveis (119)	118	1	—	—
Câncer testicular seminomatoso (6)	6	—	—	—
Câncer testicular não-seminomatoso (60)	14	8	15	23
Câncer do fígado (10)	3	—	2	5
Outas doenças malignas (40)	36	1	—	3
Cirrose (4)	3	1	—	—
Hepatite (24)	19	4	1	—
Outras doenças não malignas (6)	5	—	—	1
Mulheres				
Mulheres Saudáveis (29)	29	—	—	—
Doenças malignas (20)	18	—	1	1
Doenças não malignas (16)	15	—	1	—

Estes valores devem ser considerados apenas como directrizes. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores.

Pacientes com carcinoma testicular não seminomatoso podem apresentar uma distribuição dos valores de AFP tanto dentro quanto acima dos limites de valores de referência para homens aparentemente saudáveis. Em forma pura, seminomas não apresentam níveis elevados de AFP em soro. Porém, níveis elevados de AFP foram observados em pacientes diagnosticados com seminomas acompanhados de metástase de câncer testicular não seminomatoso.⁸

Um aumento significativo dos níveis de AFP em pacientes considerados livres de tumor metastático podem indicar o desenvolvimento de metástase. Níveis elevados após cirurgia podem indicar remoção incompleta do tumor ou presença de metástase.

Níveis elevados de AFP em soro são associados com doenças benignas do fígado como hepatite e cirrose. A maioria (95%) dos pacientes com estas doenças benignas possui níveis de AFP abaixo de 200 ng/mL (165 IU/mL).⁸⁻¹⁵

Níveis de AFP no soro materno e no líquido amniótico

Devido à variação potencial nas análises efectuadas em diferentes laboratórios, recomenda-se que um centro de análises específico determine o seu próprio grupo de níveis médios de AFP da 15^a à 20^a semana de gestação, medido na população a ser rastreada. Os valores limite geralmente utilizam múltiplos dos médios (MoM) de 2,0 ou 2,5 para o soro materno e análises ao líquido amniótico. Cada resultado das análises AFP pode depois ser expresso como um múltiplo do valor médio da população não afectada. Este valor é obtido dividindo o valor do AFP pelo valor médio para a semana gestacional que lhe corresponde. As semanas gestacionais são definidas como semanas gestacionais completas, i.e, 16 semanas, 6 dias seriam considerados a 16^a semana. Tem-se recomendado que os valores médios e os valores MoM determinados para cada semana gestacional sejam baseados em pelo menos 100 soros maternos e 50 líquidos

amnióticos de gravidezes simples não afectadas com idade gestacional confirmada.

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

Semana gestacional	N. de Espécimens	Médias IU/mL*	Múltiplos de médias que regrediram (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

*Regredidos

Abaixo pode encontrar médias para amostras de *liquido 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 Espécimens	Médias kIU/mL*	Múltiplos de médias que regrediram (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

*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 gastrointestinal. Doenças hepáticas benignas como hepatite viral aguda, hepatite crónica activa e cirrose podem apresentar concentrações elevadas de AFP em soro. Concentrações elevadas de AFP também foram observadas na gravidez, telangiectasia ataxia e tirosinemia 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 heterófilos no soro humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes no ensaio, causando interferência com os imunoensaios 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 interacções 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 × 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 1 324 IU/mL). Também foram analisadas amostras de líquido amniótico divididas 1-em-20 com três amostras de elevado teor de líquido amniótico (10 000, 20 000 e 36 000 IU/mL). (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

Especificidade: O doseamento é específico para AFP (Ver tabela de "Specificity".)

Bilirrubina (não-conjugado): Baseado na relação do doseamento com o IMMULITE AFP, a bilirrubina possui um efeito pequeno mas estatisticamente (por *t*-teste) significativo. (Veja a tabela "Bilirubin" no estudo de IMMULITE AFP.)

Hemolise: A presença de hemoglobina em concentrações até 192 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipémia: A presença de lipémia em concentrações até 3 000 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Comparação de métodos – Estudos de cancro dos testículos: O doseamento foi comparado ao IMMULITE AFP de DPC em um total de 205 amostras de pacientes homens em diferentes estágios clínicos de pré e pós-cirurgia de **câncer testicular não seminomatoso**. (Zona de trabalho: aproximadamente 0,3 – 280 IU/mL.)
Regressão linear:

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

95% Intervalo de Confiança (CI)	Desvio	Interceptar
Mais baixo	1,03	-0,51
Parte superior	1,05	1,20

Comparação de métodos – Estudos sobre defeitos do tubo neural: Em dois estudos clínicos efectuados separadamente nos Estados Unidos, os resultados de IMMULITE 2000 AFP foram comparados a dois ensaios comercializados legalmente (Kit A e Kit B) numa regressão linear para amostras de **soro materno**, numa amplitude desde não-detectável até 300 IU/mL. Regressão linear:

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

95% Intervalo de Confiança (CI)	Desvio	Interceptar
Mais baixo	0,89	0,94
Parte superior	0,93	2,68

(IML 2000) = 0,73 (Kit B) + 5,22 IU/mL
 $r = 0,97$
 $n = 1 015$

95% Intervalo de Confiança (CI)	Desvio	Interceptar
Mais baixo	0,72	4,66
Parte superior	0,74	5,79

Num dos estudos acima referidos os resultados do IMMULITE 2000 AFP também foram comparados com o Kit B numa regressão linear para as amostras de **líquido amniótico**, numa amplitude desde não-detectável até 286 kIU/mL*.

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

95% Intervalo de Confiança (CI)	Desvio	Interceptar
Mais baixo	0,77	1,78
Parte superior	0,81	2,76

* As amostras de líquido amniótico foram diluídas 1-em-101 automaticamente pelo aparelho IMMULITE 2000.

O ensaio foi comparado com DPC's IMMULITE AFP em amostras de **líquido**

amniótico, numa amplitude de aproximadamente 3 a 20 kIU/mL*. (Veja o gráfico). Por regressão linear:

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

Médias
 10,0 kIU/mL (IML)
 10,8 kIU/mL (IML 2000)

95% Intervalo de Confiança (CI)	Desvio	Interceptar
Mais baixo	0,93	-0,50
Parte superior	1,12	1,54

* As amostras de líquido amniótico foram diluídas 1-em-101 automaticamente pelo aparelho IMMULITE 2000.

O ensaio também foi comparado com DPC's IMMULITE AFP nas 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%
95% CI para todas as amostras	66,4% – 100%	40,0% – 97,2%	29,9% – 92,5%

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%
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	1 332	95,5%	98,6%	99,3%
95% CI para todas as amostras		94,2% – 96,5%	97,8% – 99,1%	98,7% – 99,7%

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%
95% CI para todas as amostras	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%
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% CI para todas as amostras		95,9% – 99,9%	97,9% – 100%	97,9% – 100%

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

Fabricado pela EURO/DPC Ltd. de acordo com o Sistema de Qualidade registado segundo a norma ISO 13485:2003.

EURO/DPC LTD

Glyn Rhonwy
Llanberis, Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

DPC®

Diagnostic Products Corporation
Corporate Offices
5210 Pacific Concourse Drive
Los Angeles, CA 90045-6900
USA

2005-07-13

PIL2KAP – 15



EC REP DPC Biermann GmbH
61231 Bad Nauheim
Germany
+49 -6032-994-00