

 IMMULITE[®]
2000

Unconjugated Estriol

DPC[®]

IMMULITE[®] 2000 Unconjugated Estriol

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE 2000 Analyzer — for the quantitative measurement of unconjugated (free) estriol in serum, as an aid in monitoring fetal maturity and well-being in the context of high-risk and poorly dated pregnancies.

Catalog Number: **L2KEF2** (200 tests),
L2KEF6 (600 tests)

Test Code: **FE3** Color: **Light Blue**

Summary and Explanation

Most of the estriol circulating or excreted during the third trimester of pregnancy is the joint product of fetus and placenta, originating from a precursor synthesized in the fetus by the adrenal glands, and transformed by the fetal liver and the placenta into estriol. On traversing the placenta, this is rapidly metabolized, primarily in the maternal liver, to conjugated forms: the estriol sulfates and glucuronides. As a result, "free" estriol, the unconjugated form, accounts for barely nine percent of the total estriol in circulation; the estriol sulfates, which are relatively long-lived, account for roughly half. Urinary estriol consists entirely of conjugated forms since only free estriol enters the maternal circulation while only the conjugated forms are excreted.

Normally, as the fetus develops, estriol production increases, resulting in a nearly three-fold rise in circulating estriol levels during the final trimester, and a corresponding increase in urinary levels. There is typically a surge at about the 36th week. According to the literature, free and total estriol concentrations reach approximately 15 and 250 ng/mL at term, while the urinary output climbs to approximately 45 mg/day. After 40 weeks, estriol levels gradually subside, declining by roughly 12 percent per week.⁹

There is considerable patient-to-patient variability: the reference range for a given gestational age may encompass estriol levels from 50 to 200 percent of the median for that age. Hence the *pattern*

generated by serial determinations is ordinarily of greater significance than the results of isolated measurements. Persistently low or rapidly falling estriol levels suggest fetal distress. However, because estriol concentrations are subject to diurnal and episodic variation, it is common practice to refer serum measurements to a baseline, defined for the patient as either the average or the highest of her three most recent estriol results. A drop of 40 percent or more relative to this baseline is likely to be significant.

In combination with other techniques for fetal surveillance, serial determinations have been used in the management of pregnancies complicated by diabetes,^{7,9} hypertension, prolonged gestation and uncertain dates. These clinical applications have been recently reviewed.^{7,9,10,14}

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 Unconjugated Estriol is a solid-phase, competitive chemiluminescent enzyme immunoassay.

Incubation Cycles: 2 × 30 minutes.

Specimen Collection

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.

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.

Samples collected into certain brands of gel barrier tubes have been shown to yield responses that are biased relative to those obtained with samples collected into plain serum tubes. See Alternate Sample Type section.

High patient samples should be *manually* diluted with an appropriate diluent.

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 Unconjugated Estriol has not been tested with all possible variations of tube types. Consult the section on Alternate Sample Types for details on tubes that have been tested.

Volume Required: 20 µL serum.

Storage: 7 days at 2–8°C, or 6 months at –20°C.

Although serum samples have been reported to be stable at –20°C, unpublished observations suggest that a small increase, of approximately 5–10%, may occur during storage at this temperature. Therefore, it is preferable to store individual samples at 2–8°C and assay them within 1 week of collection.

It is important that all samples drawn for serial monitoring of a patient's unconjugated estriol level be measured using the same assay system, and that all be subjected to the same storage conditions. Note also that between-run sources of variability can be eliminated by assaying (or reassaying) all of the samples in one and the same run

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.

Unconjugated Estriol Bead Pack (L2EF12)

With barcode. 200 beads, coated with polyclonal rabbit anti-estriol. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KEF2: 1 pack. **L2KEF6:** 3 packs.

Unconjugated Estriol Reagent Wedge (L2EFA2)

With barcode. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to estriol in buffer, with preservative. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KEF2: 1 wedge. **L2KEF6:** 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.

Unconjugated Estriol Adjustors (LEFL, LEFH)

Two vials (Low and High), 4 mL each, of unconjugated estriol in a processed human serum matrix, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

L2KEF2: 1 set. **L2KEF6:** 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

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate

L2PWSM: Probe Wash

L2KPM: Probe Cleaning Kit

LRXT: Reaction Tubes (disposable)

Also Required

Distilled or deionized water; test tubes.

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:
2 weeks.

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

Expected Values

A reference range study was performed using the IMMULITE Unconjugated Estriol assay on a cross-section of 268 third trimester serum samples, with gestational ages fairly evenly distributed from 27 to 40 weeks. Tabulated below, in both mass and molar units, are the medians and central 95% ranges for each gestational week, calculated by a global parametric method. The statistics show, as expected, a clear trend towards higher values as a function of gestational age.

Unconjugated Estriol, ng/mL			
Gestational Week	<i>n</i>	Median	Central 95% Range
27	21	6.5	2.9 – 12.7
28	21	7.3	3.3 – 14.3
29	19	8.2	3.7 – 16.0
30	19	9.2	4.1 – 17.9
31	22	10.3	4.6 – 19.9
32	18	11.4	5.1 – 22.1
33	18	12.7	5.7 – 24.4
34	20	14.0	6.3 – 27.0
35	19	15.5	7.0 – 29.7
36	20	17.0	7.7 – >30
37	19	18.7	8.5 – >30
38	20	20.4	9.3 – >30
39	18	22.3	10.2 – >30
40	14	24.3	11.1 – >30

Unconjugated Estriol, nmol/L

Gestational Week	<i>n</i>	Median	Central 95% Range
27	21	23	10 – 44
28	21	25	11 – 49
29	19	29	13 – 55
30	19	32	14 – 62
31	22	36	16 – 69
32	18	40	18 – 77
33	18	44	20 – 85
34	20	49	22 – 93
35	19	54	24 – 103
36	20	59	27 – >104
37	19	65	29 – >104
38	20	71	32 – >104
39	18	77	35 – >104
40	14	84	39 – >104

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

Limitation

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 ng/mL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Conversion Factor:

ng/mL × 3.467 → nmol/L

Calibration Range: 0.25 – 30 ng/mL
(0.87 – 104 nmol/L).

Analytical Sensitivity: 0.1 ng/mL

Precision: Samples were assayed 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: Samples were assayed under various dilutions. (See "Linearity" table for representative data.)

Recovery: Samples spiked 1 to 19 with three unconjugated estriol solutions (27, 72 and 150 ng/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody is highly specific for unconjugated estriol. (See "Specificity" table.)

Bilirubin: Presence of conjugated and unconjugated bilirubin in concentrations up to 200 mg/L has no effect on results, within the precision of the assay.

Hemolysis: Presence of hemoglobin in concentrations up to 512 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

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

Alternate Sample Type: To assess the effect of alternate sample types, blood was collected from 18 volunteers into plain, heparinized, EDTA and Becton Dickinson SST[®] vacutainer tubes. Equal volumes of the matched samples were spiked with various concentrations of estriol, to obtain values throughout the calibration range of the assay, and then assayed by the IMMULITE 2000 Unconjugated Estriol procedure. By linear regression:

(Heparin) = 0.95 (Serum) – 0.03 ng/mL
r = 0.988

(EDTA) = 1.01 (Serum) – 0.15 ng/mL
r = 0.961

(SST) = 1.12 (Plain Tubes) – 0.05 ng/mL
r = 0.957

Means:

4.6 ng/mL (Serum)

4.3 ng/mL (Heparin)

4.8 ng/mL (EDTA)

5.1 ng/mL (SST Tubes)

Method Comparison: The assay was compared to DPC's IMMULITE Unconjugated Estriol on 71 samples. (Concentration range: approximately 1.0 to 26 ng/mL. See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 1.29 (IML) + 0.38 ng/mL
r = 0.996

Means:

8.0 ng/mL (IMMULITE 2000)

5.9 ng/mL (IMMULITE)

References

- Alexander S, et al. Renal clearance of estriol and its conjugates in normal and abnormal pregnancies. *J Clin Endocrinol Metabol* 1979;49:588-93.
- Bagger PV, Jacobsson K, Gullberg B. Early prediction of individual total estriol curves in pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1981;60:187-90.
- Bashore RA, Westlake JR. Plasma unconjugated estriol values in high risk pregnancy. *Amer J Obstet Gynecol* 1977;128:371-80.
- Buster JE. Clinical applications of steroid assay tests of fetal-placental function. In: Abraham GE, editor. *Radioassay systems in clinical endocrinology*. New York: Marcel Dekker, 1981; 349-72.
- Buster JE, et al. Subhourly variability of circulating third trimester maternal steroid concentrations as a source of sampling error. *J Clin Endocrinol Metabol* 1978;46:907-10.
- Buster JE, et al. Time trend analysis of unconjugated estriol concentrations in third-trimester pregnancy. *Obstet Gynecol* 1980;56:743-47.
- Buster JE, Freeman AG, Hobel CJ. An algorithm for determining gestational age from unconjugated estriol levels. *Obstet Gynecol* 1980;56:649-55.
- Chard T. Normality and abnormality. In: Klopper A, editor. *Plasma hormone levels in evaluation of fetal wellbeing*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1976; 1-19.
- Distler W, et al. Estriol in pregnancy. V: Unconjugated and total plasma estriol in the management of pregnant diabetic patients. *Amer J Obstet Gynecol* 1978;130:424-31.
- Gauthier RJ, Griego BD, Goebelsmann U. Estriol in pregnancy. VII: Unconjugated plasma estriol in prolonged gestation. *Amer J Obstet Gynecol* 1981;139:382-89.
- Gibbons JM, Nagle M. Assessing fetal health when the mother is diabetic. *Contemp Obstet Gynecol* 1980;15:115-24.
- Goebelsmann U. The uses of oestriol as a monitoring tool. *Clin Obstet Gynecol* 1979 Aug;6(2):223-44.
- Katagiri H, et al. Estriol in pregnancy. IV: Normal concentrations, diurnal and/or episodic variations, and day-to-day changes of unconjugated and total estriol in late pregnancy plasma. *Amer J Obstet Gynecol* 1976;124:272-80.
- Klopper A. Criteria for the selection of steroid assays in the assessment of

fetoplacental function. In: Klopper A, editor. Plasma hormone levels in evaluation of fetal wellbeing. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1976; 20-35. 15) Klopper A. Choice of hormone assay in the assessment of fetoplacental function. In: Fuchs F, Klopper A, editors. Endocrinology of pregnancy. 2nd Edition. Hagerstown, Md: Harper and Row, 1977; 350-64. 16) Klopper A. Criteria for the selection of assays in the assessment of fetoplacental function. In: Abraham GE, editor. Radioassay systems in clinical endocrinology. New York: Marcel Dekker, 1981; 387-401. 17) Peterson L, Kundu N. Endocrine assessment of high risk pregnancies. *Obstet Gynecol Ann* 1980;9:169-94. 18) Scommegna A, Bieniarz J. Integrated use of physical and endocrine parameters in perinatal medicine. In: Klopper A, editor. The human placenta. New York: Academic Press, 1980; 181-89. 19) Tulchinsky D. Use of biochemical indices in the management of high risk obstetric patients. *Clin Perinatol* 1980 Sep; 7(2):413-21. 20) Tulchinsky D. The role of maternal and fetal hormones in pregnancy. *Contemp Obstet Gynecol* 1981 Jun;17(6):113-22. 21) Vorherr H. Placental insufficiency in relation to post-term pregnancy and fetal postmaturity. *Amer J Obstet Gynecol* 1975;123:67-103. 22) Whipple MJ, et al. Estriol in pregnancy. VI: Experience with unconjugated plasma estriol assays and antepartum fetal heart rate testing in diabetic pregnancies. *Amer J Obstet Gynecol* 1979;135:764-72. 23) DiCandio JM. Urinary estriols and total serum estriol: a correlation study. *Lab Med* 1978;9:47-8. 24) Goebelsmann U, et al. Estriol in pregnancy. *Amer J Obstet Gynecol* 1973;115:795-802. 25) Townsley JD, et al. Circadian rhythms of serum and urinary estrogens in pregnancy. *J Clin Endocrinol Metabol* 1973;36:289-95.

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.

The Quality System of Diagnostic Products Corporation is registered to ISO 13485:2003.

Tables and Graphs

Precision (ng/mL)

	Mean ³	Within-Run ¹			Total ²	
		SD ⁴	CV ⁵	SD	CV	
1	1.3	0.09	6.9%	0.16	12.3%	
2	1.9	0.15	7.9%	0.23	12.1%	
3	5.9	0.28	4.7%	0.43	7.3%	
4	8.8	0.40	4.5%	0.50	5.7%	
5	17.3	0.64	3.7%	0.98	5.7%	
6	23.4	0.98	4.2%	1.38	5.9%	

Linearity (ng/mL)

	Dilution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	8 in 8 ⁵	4.9	—	—
	4 in 8	2.2	2.5	88%
	2 in 8	1.1	1.2	92%
	1 in 8	0.64	0.61	105%
2	8 in 8	7.7	—	—
	4 in 8	4.1	3.9	105%
	2 in 8	2.0	1.9	105%
	1 in 8	0.98	0.96	102%
3	8 in 8	12.2	—	—
	4 in 8	5.9	6.1	97%
	2 in 8	3.1	3.1	100%
	1 in 8	1.6	1.5	107%
4	8 in 8	19.5	—	—
	4 in 8	8.7	9.8	89%
	2 in 8	4.3	4.9	88%
	1 in 8	2.0	2.4	83%
5	8 in 8	21.9	—	—
	4 in 8	9.7	11.0	88%
	2 in 8	4.6	5.5	84%
	1 in 8	2.3	2.7	85%

Recovery (ng/mL)

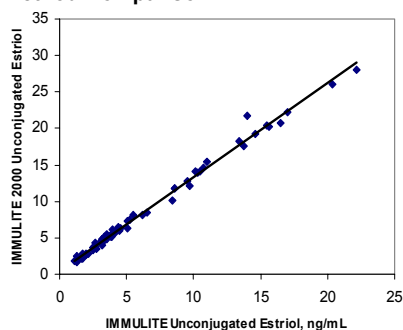
	Solution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	—	0.51	—	—
	A	2.19	1.83	120%
	B	4.62	4.08	113%
	C	8.19	7.98	103%
2	—	0.98	—	—
	A	2.45	2.28	107%
	B	4.87	4.53	108%
	C	7.85	8.43	93%
3	—	2.82	—	—
	A	4.37	4.03	108%
	B	6.24	6.28	99%
	C	9.99	10.2	98%
4	—	6.41	—	—
	A	7.48	7.41	101%
	B	9.94	9.69	103%
	C	13.9	13.6	102%
5	—	10.8	—	—
	A	11.2	11.6	97%
	B	13.7	13.9	99%
	C	18.0	17.8	101%
6	—	11.4	—	—
	A	11.9	12.2	98%
	B	13.1	14.4	91%
	C	16.9	18.3	92%

Specificity

Compound ¹	ng/mL Added ²	Apparent ng/mL ³	% Cross-reactivity ⁴
Estriol-3-sulfate	1,000	7.89	0.8%
Estriol-3β-glucuronide	1,000	ND	ND
Estriol-16β-glucuronide	500	1.21	0.2%
Estriol-17β-glucuronide	1,000	3.50	0.4%
Estradiol	5,000	2.54	0.1%
Estrone	1,000	ND	ND
Estrone-β-glucuronide	1,000	ND	ND
Estrone-3-sulfate	5,000	ND	ND
16-Epiestriol	1,000	7.81	0.8%
17-Epiestriol	5,000	10.1	0.2%
Cortisol	10,000	ND	ND
11-Deoxycortisol	10,000	ND	ND
5α-Dihydro-testosterone	100	ND	ND
Progesterone	1,000	0.49	0.05%
Testosterone	100,000	ND	ND

ND: Not detectable.⁵

Method Comparison



$$(IML\ 2000) = 1.29 (IML) + 0.38\ \text{ng/mL}$$

$$r = 0.996$$

Deutsch. Precision: ¹Intra-Assay, ²Gesamt, ³Mittelwert, ⁴S (Standardabweichung), ⁵CV (Variationskoeffizient). **Linearity:** ¹Verdünnung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E, ⁵8 in 8. **Recovery:** ¹Lösung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E. **Specificity:** ¹Verbindung, ²zugewetzte Menge, ³Gemessene Konzentration, ⁴% Kreuzreaktivität, ⁵NN: Nicht

nachweisbar. **Method Comparison:** Unconjugated Estriol: Unkonjugiertes Oestriol.

Español. Precision: ¹Intraensayo, ²Total, ³Media, ⁴DS, ⁵CV. **Linearity:** ¹Dilución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵8 en 8. **Recovery:** ¹Solución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. **Specificity:** ¹Compuesto, ²Cantidad añadida, ³Concentración aparente, ⁴% Reacción cruzada, ⁵ND: no detectable. **Method Comparison:** Unconjugated Estriol: Estriol Libre.

Fransais. Precision: ¹Intraessai, ²Total, ³Moyenne, ⁴SD, ⁵CV. **Linearity:** ¹Dilution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A, ⁵8 dans 8. **Recovery:** ¹Solution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A. **Specificity:** ¹Composé, ²ajouté, ³Concentration apparente, ⁴Réaction croisée %. ⁵ND: non détectable. **Method Comparison:** Unconjugated Estriol: Estriol non conjugué.

Italiano. Precision: ¹Intra-serie, ²Totale, ³Media, ⁴SD (Deviazione Standard), ⁵CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity:** ¹Diluzione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A, ⁵8 in 8. **Recovery:** ¹Soluzione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A. **Specificity:** ¹Composto, ²quantità aggiunta, ³Concentrazione apparente, ⁴Percentuale di Crossreattività, ⁵ND: non determinabile. **Method Comparison:** Unconjugated Estriol: Estriolo non conjugato.

Português. Precision: ¹Entre-ensaios, ²Total, ³Média, ⁴Desvio padrão, ⁵Coefficiente de variação. **Linearity:** ¹Diluição, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵8 em 8. **Recovery:** ¹Solução, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. **Specificity:** ¹Composto, ²Quantidade adicionada, ³Apparent Concentration, ⁴Percentagem de reação cruzada, ⁵ND: não detectável. **Method Comparison:** Unconjugated Estriol: Estriol nao-conjugado.

Deutsch

IMMULITE 2000 Freies Östrial

Anwendung: Zur in vitro Diagnostik unter Verwendung des IMMULITE 2000 Systems für die quantitative Bestimmung von freiem Östrial im Serum, als eine Hilfe beim Monitoring der fetalen Reife, des fetalen Wohlbefindens, bei Hoch-Risikoschwangerschaften und bei ungenauer Kenntnis der Schwangerschaftsdauer.

Artikelnummern: **L2KEF2** (200 Tests), **L2KEF6** (600 Tests)

Testcode: **FE3** Farbe: **hellblau**

Klinische Relevanz

Der größte Anteil des produzierten Östriols während des dritten Trimenons ist ein gemeinsames Produkt des Fetus und der Plazenta. In der fetalen Nebennierenrinde wird ein Vorläufer gebildet, der in der fetalen Leber und in der Plazenta zu Östrial umgewandelt wird. Nach der Passage durch die Plazenta wird in der Leber der Mutter der größte Teil davon zu Östrial-Sulfaten und Glucuroniden konjugiert. Daraus resultiert, dass das freie Östrial, d.h. die unkonjugierte Form, nur 9% des Gesamt-Östriols in dem Blutkreislauf ausmacht. Die langlebigen Östrial-Sulfate machen dagegen ca. die Hälfte des Gesamt-Östriols aus. Nur das freie Östrial kann in den mütterlichen Kreislauf gelangen, während im Urin ausschließlich nur Östrial-Konjugate ausgeschieden werden.

Normalerweise steigen mit der fetalen Entwicklung die Östrial-Spiegel an, so dass im letzten Trimenon ein fast dreifacher Anstieg der Östrial-Konzentrationen sowohl im Serum als auch im Urin beobachtet werden kann. In der 36. Woche gibt es normalerweise einen steilen Östrial-Anstieg. Gemäß Literaturangaben steigen bis zur Geburt die Konzentrationen an freiem Östrial bis auf 15 ng/ml und an Gesamt-Östrial bis auf 250 ng/ml, während sich die Östrial-Ausscheidung im Urin bis auf ca. 45 mg/Tag erhöht. Nach 40 Wochen sinken die Östrial-Spiegel allmählich um ca. 12% pro Woche.⁹

Da es erhebliche individuelle Unterschiede geben kann, kann der Referenzbereich für ein bestimmtes Gestationsalter zwischen 50 und 200% des Medians für dieses Alter umfassen. Daher ist eine Verlaufkontrolle wesentlich aussagekräftiger als eine einzelne Bestimmung. Anhaltend niedrige oder schnell abfallende Östrial-Spiegel weisen auf fetale Komplikationen hin. Da Östrial-Spiegel diurnalen und episodischen Schwankungen unterliegen, werden die Serumbestimmungen üblicherweise auf einen Basiswert bezogen, der für jede Patientin entweder als der durchschnittliche oder der höchste der letzten drei Östrial-Bestimmungen definiert ist. Ein Abfall von 40% oder mehr, bezogen auf diesen Basiswert, ist signifikant.

Bei der Kontrolle von Risikoschwangerschaften (Diabetes,^{7,9} Hypertonie, lange Schwangerschaftsdauer und ungenauer Kenntnis der Schwangerschaftsdauer) werden Verlaufsbestimmungen des Östriols in Verbindung mit anderen Methoden zur Überwachung des Fetus empfohlen. Diese klinischen Anwendungen sind kürzlich publiziert worden.^{7,9,10,14}

Methodik

IMMULITE 2000 freies Östriol ist ein festphasengebundener kompetitiver Chemilumineszenz Enzymimmunoassay.

Testdauer: 2 × 30 min.

Probengewinnung

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.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analyseergebnissen 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.

Proben, die in bestimmten Geltrennröhrchen abgenommen werden, können im Gegensatz zu in einfachen Serumröhrchen abgenommenen Proben Abweichungen aufweisen. Siehe auch Kapitel „Alternative Probenarten“

Patientenproben mit hohen Werten sollten mit einem geeigneten Diluent *manuell verdünnt werden*.

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 Freies Östriol sind nicht mit allen

möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 20 µl Serum.

Lagerung: 7 Tage bei 2–8°C, oder 6 Monate at –20°C.

Obwohl Serumproben bei –20°C stabil sind, kann gemäß unveröffentlichten Beobachtungen ein geringer Anstieg von ca. 5–10% durch Lagerung bei dieser Temperatur beobachtet werden. Es ist daher zu empfehlen, individuelle Proben bei 2–8°C zu lagern und innerhalb einer Woche zu messen.

Bei einem Langzeitmonitoring einer Patientin ist es wichtig, den gleichen Assay zu verwenden und alle Proben gleich zu lagern. Interassay-Variabilitäten können dadurch eliminiert werden, dass alle Proben in einem Lauf bestimmt werden.

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 vermeiden, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

Chemilumineszenz-Substrat: Kontamination und direkte Sonneneinstrahlung vermeiden (Siehe Packungsbeilage).

Wasser: Destilliertes oder deionisiertes Wasser verwenden.

Im Lieferumfang enthalten

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

Freies Östriol Kugel-Container (L2EF12)

Barcodiert. 200 Kugeln beschichtet mit Anti-Östriol-Antikörpern (polyklonal, Kaninchen). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

L2KEF2: 1 Container.

L2KEF6: 3 Container.

Freies Östriol Reagenzbehälter (L2EFA2)

Barcodiert. 11,5 ml mit alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugiertes Östriol im Puffer (mit Konservierungsmittel). Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.

L2KEF2: 1 Behälter.

L2KEF6: 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.

Freies Östriol Kalibratoren (LEFL, LEFH)

Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) à 4 ml mit freiem Östriol in einer prozessierten humanen Serum-Matrix (mit Konservierungsmittel). 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).

L2KEF2: 1 Set. **L2KEF6:** 2 Sets.

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

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul

L2PWSM: Waschmodul

L2KPM: Reinigungsmodul

LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser;
Teströhrchen.

Testdurchführung

Für eine optimale Testdurchführung ist es wichtig, die im IMMULITE 2000-Handbuch beschriebene Routinewartung regelmäßig durchzuführen.

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

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
2 Wochen.

Qualitätskontrollproben: Kontrollen oder Poolseren mit freiem Östriol in mindestens zwei Konzentrationen (niedrig und hoch) verwenden.

Referenzwerte

Die Referenzwerte wurden mit dem IMMULITE Freies Östriol Assay in einer repräsentativen Studie mit 268 Serumproben aus dem dritten Trimenonon (relativ gleichmäßig verteilt 27. bis 40. Schwangerschaftswoche) ermittelt. In den unten aufgeführten Tabellen sind die mit Hilfe einer parametrischen Methode ermittelten Mediane und die 95% Bereiche für jede Schwangerschaftswoche sowohl in ng/ml als auch in nmol/l angegeben. Die Statistik zeigt wie erwartet eindeutig einen Trend zu höheren Werten in Abhängigkeit von der Dauer der Schwangerschaft.

SSW	n	Freies Östriol, ng/ml	
		Median	95% Bereich
27	21	6,5	2,9 – 12,7
28	21	7,3	3,3 – 14,3
29	19	8,2	3,7 – 16,0
30	19	9,2	4,1 – 17,9
31	22	10,3	4,6 – 19,9
32	18	11,4	5,1 – 22,1
33	18	12,7	5,7 – 24,4
34	20	14,0	6,3 – 27,0
35	19	15,5	7,0 – 29,7
36	20	17,0	7,7 – >30
37	19	18,7	8,5 – >30
38	20	20,4	9,3 – >30
39	18	22,3	10,2 – >30
40	14	24,3	11,1 – >30

SSW	n	Freies Östriol, nmol/l	
		Median	95% Bereich
27	21	23	10 – 44
28	21	25	11 – 49
29	19	29	13 – 55
30	19	32	14 – 62
31	22	36	16 – 69
32	18	40	18 – 77
33	18	44	20 – 85
34	20	49	22 – 93
35	19	54	24 – 103
36	20	59	27 – >104
37	19	65	29 – >104
38	20	71	32 – >104
39	18	77	35 – >104
40	14	84	39 – >104

Diese Grenzwerte sind lediglich als *Richtlinien* aufzufassen. Jedes Labor sollte seine eigenen Referenzbereiche etablieren.

Grenzen der Methode

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 ng/ml ausgedrückt. (Alle Daten wurden — sofern nicht anders angegeben — aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Umrechnungsfaktor:

ng/ml \times 3,467 \rightarrow nmol/l

Messbereich: 0,25 – 30 ng/ml
(0,87 – 104 nmol/l),

Analytische Sensitivität: 0,1 ng/ml

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Testansätzen in Doppelbestimmung gemessen (insgesamt 40 Bestimmungen und 80 Einzelmessungen; siehe Tabelle „Precision“).

Linearität: Proben wurden in verschiedenen Verdünnungen getestet. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Linearity“.)

Wiederfindung: Die getesteten Proben waren mit drei Freies Östriol-Lösungen 1:19 versetzt (27, 72 und 150 ng/ml). (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Recovery“.)

Spezifität: Hochspezifischer Anti-Freies Östriol-Antikörper (siehe Tabelle „Specificity“).

Bilirubin: Konjugiertes und unkonjugiertes Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Messung, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 512 mg/dl keinen

Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

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

Alternative Probenarten: Um den Effekt alternativer Probenarten zu bewerten, wurde Blut von 18 freiwilligen Personen in normale Röhrchen ohne Zusätze, in EDTA-, Heparin-Röhrchen u. in Becton Dickinson SST® Vacutainer-Röhrchen abgenommen. Gleiche Volumina von gepaarten Proben wurden mit verschiedenen Konzentrationen freien Östriols versetzt, um Werte über den gesamten Meßbereich zu erhalten und anschließend mit dem IMMULITE 2000 freies Östriol gemessen. Daraus ergab sich folgende lineare Regression:

(Heparin) = 0,95 (Serum) – 0,03 ng/ml
r = 0,988

(EDTA) = 1,01 (Serum) – 0,15 ng/ml
r = 0,961

(SST) = 1,12 (einfachen Röhrchen) – 0,05 ng/ml
r = 0,957

Mittelwerte:

4,6 ng/ml (Serum)

4,3 ng/ml (Heparin)

4,8 ng/ml (EDTA)

5,1 ng/ml (SST-Röhrchen)

Methodenvergleich: Der Assay wurde unter Verwendung von 71 Proben mit dem IMMULITE Freies Östriol Assay von DPC verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 1,0 – 26 ng/ml; Siehe Grafik.) Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 1,29 (IML) + 0,38 ng/ml
r = 0,996

Mittelwerte:

8,0 ng/ml (IMMULITE 2000)

5,9 ng/ml (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre DPC Niederlassung.

Das Qualitätssystem der Diagnostic Products Corporation ist nach ISO 13485:2003 registriert.

Español

IMMULITE Estriol no Conjugado

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico in vitro con el Analizador IMMULITE 2000 — para la medida cuantitativa del estriol no conjugado (libre) en suero, como ayuda en la monitorización de la madurez y buen estado fetal en el contexto de embarazos de alto riesgo y embarazos recientes.

Referencia: **L2KEF2** (200 tests),
L2KEF6 (600 tests)

Código del Test: **FE3**

Código de Color: **Azul claro**

Resumen y Explicación del Test

La mayoría del estriol circulante o excretado durante el tercer trimestre de embarazo es producido por la placenta y el feto, originado a partir de un precursor sintetizado por las glándulas adrenales del feto, y transformado por la placenta y el hígado del feto en estriol. Al atravesar la placenta, éste es rápidamente metabolizado, en primer lugar en el hígado materno, en formas conjugadas: estriol sulfato y glicosilado. Como resultado, el estriol "libre", la forma no conjugada, supone apenas un nueve por ciento del total de estriol circulante; el estriol sulfato, que relativamente tiene una larga vida, supone aproximadamente la mitad. El estriol urinario corresponde a las formas no conjugadas debido a que sólo el estriol libre pasa a la circulación materna mientras que las formas sólo conjugadas son excretadas.

Normalmente, a medida que el feto se desarrolla, la producción de estriol aumenta, casi triplicándose los niveles de estriol circulante durante el último trimestre, y con un correspondiente aumento de los niveles urinarios. Típicamente hay una subida sobre la trigésimosexta semana. De acuerdo con la literatura, las concentraciones de estriol libre y total alcanzan aproximadamente 15 y 250 ng/ml al trimestre, mientras que la subida del urinario aumenta 45 mg/día aproximadamente. Pasadas 40 semanas,

los niveles de estriol bajan gradualmente, disminuyendo más o menos un 12 por ciento por semana.⁹

Existe una variabilidad considerable de paciente a paciente: el rango de referencia para una determinada edad gestacional puede abarcar niveles de estriol desde el 50 al 200 por ciento de la mediana para esa edad. De aquí, que el patrón generado mediante determinaciones seriadas tenga mayor significado que la medida de resultados aislados. Una caída persistente o rápida de los niveles de estriol sugieren sufrimiento fetal. Sin embargo, debido a que las concentraciones de estriol están sujetas variaciones diurnas y episódicas, es una práctica común referir las medidas en suero a una línea de base, definida tanto por el promedio como por el más alto de sus tres resultados de estriol más recientes. Una caída de un 40 por ciento o más con respecto a esta línea de base será muy probablemente significativo.

En combinación con otras técnicas para el vigilancia fetal, se han utilizado determinaciones consecutivas en el control de embarazos complicados por diabetes,^{7,9} hipertensión, gestación prolongada y de fecha no determinada. Estas aplicaciones clínicas han sido recientemente revisadas.^{7,9,10,14}

Principio del análisis

Estriol no conjugado IMMULITE 2000 es un enzoinmunoensayo de quimioluminiscencia en fase sólida de tipo competitivo.

Ciclos de incubación: 2 × 30 minutos.

Recogida de la muestra

Se recomienda el uso de ultracentrifuga para aclarar muestras lipémicas.

Las muestras hemolizadas podrían indicar un mal tratamiento del espécimen antes de ser recibido por el laboratorio; como consecuencia, los resultados deben ser interpretados con precaución.

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.

Se ha observado que en muestras recogidas en tubos con gelosa de ciertas marcas muestran respuestas que están relativamente influenciadas por aquellas obtenidas con muestras recogidas en tubos de suero secos. Ver la sección Tipos de Muestra Alternativos.

Muestras de pacientes con concentraciones altas deben ser diluidas manualmente con diluyente apropiado.

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 Estriol no Conjugado IMMULITE 2000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos. Para obtener detalles sobre los tipos tubos que se han analizado, consulte la sección de Tipos de Muestras Alternativos.

Volumen requerido: 20 µl suero.

Almacenamiento: 7 días a 2–8°C, o 6 meses a –20°C.

Aunque se informa que las muestras de suero son estables a –20°C, existen observaciones, no publicadas, que sugieren que se puede producir un pequeño aumento de la concentración de aproximadamente 5–10% durante el almacenamiento a esta temperatura. Así que, es preferible almacenar las muestras individualmente a 2–8°C y procesarlas a la semana de haber sido recogidas.

Es importante que las muestras extraídas para monitorizaciones seriadas de los niveles de estriol no conjugado de los pacientes, se midan utilizando el mismo sistema de ensayo, y que todas hayan estado sujetas a las mismas condiciones de almacenamiento. También tener en cuenta que la variabilidad interensayo se puede eliminar mediante el procesamiento (o reprocesamiento) de todas las muestras dentro de un mismo y único ensayo.

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.

Sustrato quimioluminiscente: evite 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 Estriol no conjugado (L2EF12)

Con código de barras. 200 bolas, recubiertas con anti-estriol policlonal de conejo. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KEF2: 1 cartucho.

L2KEF6: 3 cartuchos.

Vial de Reactivo de Estriol no conjugado (L2EFA2)

Con código de barras. 11,5 ml fosfatasa alcalina (intestino bovino) conjugada con estriol en buffer, con conservante. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KEF2: 1 vial. **L2KEF6:** 3 viales.

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 Estriol no conjugado (LEFL, LEFH)

Dos viales (Alto y Bajo), de 4 ml cada uno, de estriol no conjugado en una matriz

procesada de suero humano, con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de la apertura, o 6 meses a –20°C (alícuotados).

L2KEF2: 1 juego. **L2KEF6:** 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

L2SUBM: Sustrato quimioluminiscente

L2PWSM: Lavado de sonda

L2KPM: Kit de limpieza de sonda

LRXT: Tubos de reacción (desechables)

También necesarios

Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo.

Ensayo

Nótese que para una óptima ejecución, es importante realizar los procedimientos de mantenimiento rutinario definidos en el manual del operador IMMULITE 2000.

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

Intervalo de ajuste recomendado:

2 semanas.

Muestras de Control de Calidad: Usar controles o pools de sueros con al menos dos niveles (alto y bajo) de estriol no conjugado.

Valores esperados

Se realizó un estudio de rangos de referencia utilizando el ensayo para IMMULITE de estriol no conjugado con una muestra representativa de 268 muestras de suero del tercer trimestre, con edades gestacionales distribuidas uniformemente desde la semana 27 a la 40. En la tabla, tanto en unidades de masa como de molaridad, están las medianas y rangos centrados en el 95% para cada semana gestacional, calculadas mediante un método paramétrico global. La estadística muestra, como se esperaba, una clara tendencia hacia valores más altos en función de la edad gestacional.

Semana Gestacional	n	Estríol no conjugado, ng/ml	
		Mediana	Rango Centrado 95%
27	21	6,5	2,9 – 12,7
28	21	7,3	3,3 – 14,3
29	19	8,2	3,7 – 16,0
30	19	9,2	4,1 – 17,9
31	22	10,3	4,6 – 19,9
32	18	11,4	5,1 – 22,1
33	18	12,7	5,7 – 24,4
34	20	14,0	6,3 – 27,0
35	19	15,5	7,0 – 29,7
36	20	17,0	7,7 – >30
37	19	18,7	8,5 – >30
38	20	20,4	9,3 – >30
39	18	22,3	10,2 – >30
40	14	24,3	11,1 – >30

Semana Gestacional	n	Estríol no conjugado, nmol/l	
		Mediana	Rango Centrado 95%
27	21	23	10 – 44
28	21	25	11 – 49
29	19	29	13 – 55
30	19	32	14 – 62
31	22	36	16 – 69
32	18	40	18 – 77
33	18	44	20 – 85
34	20	49	22 – 93
35	19	54	24 – 103
36	20	59	27 – >104
37	19	65	29 – >104
38	20	71	32 – >104
39	18	77	35 – >104
40	14	84	39 – >104

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

Limitación

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, consulte las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en ng/ml. (A no ser que se indique lo contrario, todos los resultados fueron generados en muestras de suero recogidas en tubos sin geles o activadores de la coagulación.)

Factor de Conversión:
ng/ml × 3,467 → nmol/l

Intervalo de calibración: 0,25 – 30 ng/ml (0,87 – 104 nmol/l),

Sensibilidad: 0,1 ng/ml

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

Linealidad: las muestras fueron analizadas con varias diluciones. (Véase la tabla "Linearity" para resultados representativos).

Recuperación: Ensayadas de 1 a 19 muestras unidas con tres soluciones de estríol conjugado (27, 72 y 150 ng/ml). (Ver la tabla "Recovery" para resultados representativos).

Especificidad: El anticuerpo es altamente específico para estríol no conjugado. (Ver la tabla "Specificity").

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina conjugada y libre en concentraciones hasta 200 mg/l no tiene efecto en el

ensayo, en lo concerniente a la precisión del ensayo.

Hemolisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 512 mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Lipemia: La presencia de triglicéridos en concentraciones hasta 3 000 mg/dl no tiene efecto alguno en los resultados, en lo correspondiente a la precisión del ensayo.

Tipos de Muestra Alternativos: Para ensayar el efecto de tipos de muestra alternativos, la sangre extraída de 18 voluntarios en tubos secos, heparinizados, con EDTA y en tubos de vacutainer Becton Dickinson SST®. Volúmenes iguales de muestras mezcladas se añadieron a varias concentraciones de estriol para obtener valores dentro del rango de calibración del ensayo, y después se analizaron con el Estriol no conjugado en el IMMULITE 2000. Por regresión lineal:

(Heparina) = 0,95 (Suero) – 0,03 ng/ml
r = 0,988

(EDTA) = 1,01 (Suero) – 0,15 ng/ml
r = 0,961

(SST) = 1,12 (tubos simples) – 0,05 ng/ml
r = 0,957

Medias:

4,6 ng/ml (Suero)
4,3 ng/ml (Heparina)
4,8 ng/ml (EDTA)
5,1 ng/ml (Tubos SST)

Comparación de los métodos: El ensayo fue comparado con el Estriol no conjugado IMMULITE de DPC utilizando 71 muestras. (Intervalo de concentración: aproximadamente de 1,0 a 26 ng/ml. Véase el gráfico.) Por regresión lineal:

(IML 2000) = 1,29 (IML) + 0,38 ng/ml
r = 0,996

Medias:

8,0 ng/ml (IMMULITE 2000)
5,9 ng/ml (IMMULITE)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

El Sistema de Calidad de Diagnostic Products Corporation está registrado para la ISO 13485:2003.

Français

IMMULITE 2000 Oestriol Libre

Domaine d'utilisation: Dosage quantitatif de l'œstriol non-conjugué (libre) dans le sérum. Réservé à un usage diagnostique *in vitro* avec l'analyseur IMMULITE 2000, ce test constitue une aide pour le contrôle de la maturité et de la santé du fœtus dans le contexte d'une grossesse à risque ou d'un âge gestationnel incertain.

Référence catalogue :

L2KEF2 (200 tests), **L2KEF6** (600 tests)

Code produit : **FE3**

Code couleur : **bleu clair**

Introduction

La majeure partie de l'œstriol circulant ou excrété au cours du premier trimestre de la grossesse, est le produit commun du fœtus et du placenta, avec à l'origine un précurseur synthétisé dans le fœtus par les glandes surrénales et transformé par le foie fœtal et le placenta en œstriol. En franchissant le placenta, ce dernier est rapidement métabolisé, essentiellement dans le foie maternel, en formes conjuguées : sulfates d'œstriol et glycucoconjugués. Par conséquent, l'œstriol « libre » (la forme non-conjuguée) ne représente qu'à peine 9 % de l'œstriol total circulant ; les sulfates d'œstriol, dont la demi-vie est relativement longue, en représentent environ la moitié. L'œstriol urinaire est exclusivement formé de formes conjuguées puisque seul de l'œstriol libre parvient dans la circulation maternelle cependant que seules des formes conjuguées sont excrétées.

Normalement, à mesure que se développe le fœtus, la production d'œstriol augmente, résultant en un quasi-triplement du taux d'œstriol circulant au cours du dernier trimestre et un accroissement correspondant du taux urinaire. On note habituellement une forte augmentation aux environs de la 36^{ème} semaine. D'après la littérature, les concentrations d'œstriol libre et totale atteignent à terme environ 15 et 250 ng/ml, respectivement, cependant que l'excrétion urinaire atteint 45 mg/j environ. Après 40 semaines, les

concentrations d'œstriol diminuent d'environ 12 % par semaine.⁹

Il existe une grande variabilité d'un sujet à l'autre : l'intervalle de référence pour un âge de la grossesse donné peut comprendre des valeurs allant de 50 à 200 % de la médiane correspondant à cet âge. Aussi, le *statut* révélé par des dosages sériés est habituellement plus significatif que des mesures isolées. Des taux d'œstriol constamment bas ou diminuant rapidement sont évocateurs de souffrance fœtale. Cependant, les concentrations d'œstriol étant sujettes à des variations diurnes et épisodiques, il est fréquent de rapporter les mesures sériques à un niveau de base, défini chez le patient comme étant la moyenne ou la valeur la plus élevée des trois dernières mesures du taux d'œstriol. Une baisse de 40 % par rapport à cette valeur de base est vraisemblablement significative.

Associées à d'autres techniques de surveillance fœtale, les dosages sériés ont été utilisés dans la prise en charge des grossesses compliquées de diabète,^{7,9} d'hypertension, de gestation prolongée et d'âge gestationnel incertain. Ces applications cliniques ont fait l'objet de synthèses récentes.^{7,9,10,14}

Principe du test

Le test IMMULITE 2000 Oestriol Libre est un immunodosage chimiluminescent, par compétition, en phase solide.

Cycles d'incubation : 2 × 30 minutes.

Recueil des échantillons

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.

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.

Il a été démontré que des échantillons prélevés sur certains types de tubes contenant du gel donnaient des résultats biaisés comparés à ceux obtenus d'échantillons prélevés sur tubes sériques secs. Se reporter au chapitre "Utilisation de différents types d'échantillons".

Les échantillons de patients hautement concentrés doivent être dilués manuellement avec un diluant approprié.

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 Estriol libre IMMULITE 2000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles. Veuillez consulter le chapitre intitulé Autres Types d'Échantillons pour plus de renseignements sur les tubes qui ont été évalués.

Volume nécessaire : 20 µl de sérum.

Conservation : 7 jours à +2°C/8°C ou 6 mois à -20°C.

Même si les échantillons sériques sont considérés comme stables à -20 °C, des études non-publiées suggèrent qu'une légère augmentation, de 5 à 10 % environ, est susceptible de se produire au cours du stockage à cette température. Il est donc préférable de conserver les échantillons à +2/ +8 °C et de les doser dans la semaine qui suit leur prélèvement.

Il importe que tous les échantillons recueillis pour un dosage sérié du taux d'œstriol non-conjugué soient dosés en employant le même système de mesure, et que tous soient conservés dans les mêmes conditions. Il faut également noter que les sources de variabilité inter-séries peuvent être évitées en dosant (ou en dosant de nouveau) tous les échantillons au cours d'une même et unique série.

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-VHC 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 toutes contaminations et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

Eau : utiliser 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 Estriol libre (L2EF12)

Avec code-barre. 200 billes revêtues d'un anticorps polyclonal de lapin anti-estriol. Stable à 2°C –8°C jusqu'à la date de péremption.

L2KEF2: 1 cartouche.

L2KEF6: 3 cartouches.

Cartouche à réactif Estriol libre (L2EFA2)

Avec code-barre. 11,5 ml d'Estriol marqué à la phosphatase alcaline (intestins de veau) dans un tampon, avec conservateur. Stable à +2/ +8 °C jusqu'à la date de péremption.

L2KEF2: 1 cartouche.

L2KEF6: 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 Estriol libre (LEFL, LEFH)

2 flacons (« bas » et « haut ») contenant chacun 4 ml d'estriol libre dans une matrice de sérum humain prétraité, avec conservateur. Stables à +2°C/8°C pendant les 30 jours suivant l'ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.

L2KEF2: 1 jeu. **L2KEF6**: 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

L2SUBM: Substrat chimiluminescent

L2PWSM: Solution de lavage

L2KPM: Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

LRXT: Godets réactionnels (jetables)

Egalement requis

Eau distillée ou désionisée ; tubes.

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, le dilution, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé : 2 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) de l'œstriol non-conjugué.

Valeurs de référence

Une étude des valeurs de référence a été menée avec le test IMMULITEœstriol non-conjugué à partir d'une enquête transversale sur 268 échantillons sériques de femmes au troisième trimestre de la grossesse avec des âges de grossesse à peu près également répartis entre la 27^{ème} et la 40^{ème} semaines. Le tableau ci-dessous indique, en unités de masse et en unités molaires, les valeurs de

référence pour l'intervalle centré à 95 % et les médianes pour chaque semaine de grossesse. Comme on pouvait s'y attendre, les statistiques montrent une tendance marquée vers des valeurs plus élevées avec l'âge gestationnel.

Œstriol non-conjugué, ng/ml			
Semaine de la grossesse	n	Médiane	Intervalle à 95 %
27	21	6,5	2,9 – 12,7
28	21	7,3	3,3 – 14,3
29	19	8,2	3,7 – 16,0
30	19	9,2	4,1 – 17,9
31	22	10,3	4,6 – 19,9
32	18	11,4	5,1 – 22,1
33	18	12,7	5,7 – 24,4
34	20	14,0	6,3 – 27,0
35	19	15,5	7,0 – 29,7
36	20	17,0	7,7 – >30
37	19	18,7	8,5 – >30
38	20	20,4	9,3 – >30
39	18	22,3	10,2 – >30
40	14	24,3	11,1 – >30

Œstriol non-conjugué, nmol/l			
Semaine de la grossesse	n	Médianes	Intervalle à 95 %
27	21	23	10 – 44
28	21	25	11 – 49
29	19	29	13 – 55
30	19	32	14 – 62
31	22	36	16 – 69
32	18	40	18 – 77
33	18	44	20 – 85
34	20	49	22 – 93
35	19	54	24 – 103
36	20	59	27 – >104
37	19	65	29 – >104
38	20	71	32 – >104
39	18	77	35 – >104
40	14	84	39 – >104

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

Limites

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 exceptionnels 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 de ce test. Les résultats sont donnés en ng/ml. (En l'absence d'indication contraire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques recueillis en tubes, sans gel ni activateurs de la coagulation.)

Facteur de conversion :
ng/ml × 3,467 → nmol/l

Domaine de mesure : 0,25 – 30 ng/ml
(0,87 – 104 nmol/l),

Sensibilité analytique : 0,1 ng/ml

Précision : les échantillons sont dosés en duplicate sur une période qui s'étend sur 20 jours, avec deux séries par jours, soit 40 séries et 80 replicate au total. (Voir le tableau « Precision ».)

Test de dilution : des échantillons ont été dosés à différentes concentrations. (Voir le tableau « Linearity » pour des données représentatives.)

Test de récupération : les échantillons testés ont été surchargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions oestriol non-conjugué (27, 72 et 150 ng/ml) (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : l'anticorps utilisé est hautement spécifique de l'oestriol non-conjugué (Voir le tableau « Specificity ».)

Bilirubine : La présence de bilirubine, conjuguée ou non, n'a aucun effet sur le dosage ni sur sa précision si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

Hémolyse : La présence d'hémoglobine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 512 mg/dl.

Lipémie : La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 3 000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

Différents types d'échantillons: Afin de déterminer l'effet de l'utilisation de différents types d'échantillons, du sang a été prélevé sur 18 volontaires sur tubes vacutainers secs, héparinés, EDTA et sur tubes SST Becton Dickinson. Des volumes égaux des différents échantillons ont été chargés avec différentes concentrations d'Estriol pour obtenir des valeurs comprises dans le domaine de mesure du dosage et ont été testés avec le protocole IMMULITE 2000 Estriol libre. Par régression linéaire :

(Héparine) = 0,95 (Sérum) – 0,03 ng/ml
r = 0,988

(EDTA) = 1,01 (Sérum) – 0,15 ng/ml
r = 0,961

(SST) = 1,12 (Tubes ordinaires) – 0,05 ng/ml
r = 0,957

Moyennes :
4,6 ng/ml (Sérum)
4,3 ng/ml (Héparine)
4,8 ng/ml (EDTA)
5,1 ng/ml (Tubes SST)

Comparaison de méthodes: Ce test a été comparé au dosage IMMULITE Estriol libre de DPC sur 71 échantillons. (dont les concentrations allaient d'environ 1,0 à 26 ng/ml. Voir graphique.) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 1,29 (IML) + 0,38 ng/ml
r = 0,996

Moyennes :
8,0 ng/ml (IMMULITE 2000)
5,9 ng/ml (IMMULITE)

Assistance technique

En France distribué par DPC France 90
bd National 92257 La garenne-Colombes.

Le système d'assurance qualité de DPC est certifié ISO 13485 (2003).

Italiano

IMMULITE 2000 Estriolo Non Coniugato

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con l'Analizzatore IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa dell'estriolo (libero) non coniugato nel siero, quale ausilio nel monitoraggio della maturità e del benessere fetale nel contesto di gravidanze ad elevato rischio e con problemi di datazione.

Codice: **L2KEF2** (200 test),
L2KEF6 (600 test)

Codice del Test: **FE3** Colore: **Blu Chiaro**

Riassunto e Spiegazione del Test

La maggior parte dell'estriolo circolante o escreto durante il terzo trimestre di gravidanza è il prodotto combinato del feto e della placenta, che ha origine da un precursore sintetizzato nelle ghiandole surrenaliche del feto e trasformato dal fegato fetale e dalla placenta in estriolo. Attraversando la placenta, viene rapidamente metabolizzato, principalmente nel fegato materno in forme coniugate: i solfati di estriolo ed i glucuronidi. Ne risulta che l'estriolo "libero", la forma non coniugata, rappresenta solo il 9% dell'estriolo totale in circolo; i solfati di estriolo che presentano un'emivita piuttosto lunga, ne rappresentano circa la metà. L'estriolo urinario è formato interamente dalle forme coniugate poiché solo l'estriolo libero entra nel circolo materno mentre vengono escrete solo le forme coniugate.

Normalmente, con lo sviluppo del feto, la produzione di estriolo aumenta, fino ad arrivare ad un incremento di tre volte nei livelli di estriolo circolante durante il trimestre finale ed un corrispondente aumento nei livelli urinari. Si verifica un tipico aumento intorno alla 36° settimana. Secondo i dati presenti in letteratura, le concentrazioni di estriolo libero e totale raggiungono circa i 15 e 250 ng/mL alla fine della gravidanza, mentre il rilascio

urinario ha un picco di circa 45 mg/giorno. Dopo 40 settimane, i livelli di estriolo gradualmente diminuiscono di circa il 12% la settimana.⁹

Esiste una considerevole variabilità da paziente a paziente: il range di riferimento per una data età gestazionale può comprendere livelli di estriolo dal 50 a 200% del valore mediano per quell'età. Quindi, l'andamento generato da determinazioni seriali è normalmente molto più significativo dei risultati di misurazioni isolate. Livelli di estriolo persistentemente bassi o che decadono rapidamente sono indice di sofferenza fetale. Tuttavia, poiché le concentrazioni di estriolo sono soggette a variazioni diurne ed episodiche, è pratica comune riferire le misurazioni di siero a valori di base, definiti per il paziente sia come la media o il valore più elevato dei suoi tre valori di estriolo più recenti. Una diminuzione del 40% o più in relazione a questi dati di base rappresenta un dato significativo.

In combinazione con altre tecniche per la sorveglianza del feto, sono state utilizzate determinazioni seriali nella gestione di gravidanze complicate dal diabete,^{7,9} dall'ipertensione, da una gestazione prolungata e da datazioni incerte. Queste applicazioni cliniche sono state recentemente riviste.^{7,9,10,14}

Principio del Dosaggio

Il kit IMMULITE 2000 Estriolo Non Coniugato è un dosaggio immunoenzimatico competitivo in chemiluminescenza ed in fase solida.

Cicli d'incubazione: 2 × 30 minuti.

Prelievo dei Campioni

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

Campioni emolizzati possono indicare un cattivo trattamento dei campioni prima dell'arrivo al laboratorio; quindi i risultati devono essere interpretati con cautela.

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.

I campioni raccolti in provette a barriera di gel di alcune marche hanno prodotto risposte il cui bias è stato messo in relazione a quello ottenuto da campioni prelevati in provette semplici per il siero. Vedi la Sezione relativa al Tipo di Campioni Alternativi.

I campioni dei pazienti che risultano elevati devono essere diluiti *manualmente* con un diluente idoneo.

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 Estriolo Non Coniugato non è stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Tipologia di Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume Richiesto: 20 µL di siero.

Conservazione: 7 giorni a 2–8°C, o 6 mesi a –20°C.

Benché i campioni di siero siano stabili a –20°C, le osservazioni non pubblicate suggeriscono che un piccolo incremento, di circa 5–10%, può verificarsi durante la conservazione a questa temperatura. Quindi, è preferibile conservare i campioni individuali a 2–8°C e dosarli entro una settimana dal prelievo.

E' importante che tutti i campioni per i monitoraggi seriali dei livelli di estriolo non coniugato siano misurati utilizzando lo stesso sistema di dosaggio e che tutti i campioni siano stati soggetti alle stesse condizioni di conservazione. Notare anche che le sorgenti di variabilità intra-seduta possono essere eliminate dosando (o ridosando) tutti i campioni in singolo e nella stessa seduta.

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

Reagenti: Conservare a 2–8°C. Eliminare in conformità alle leggi vigenti.

Seguire le precauzioni generali, e manipolare tutti i componenti come se potessero trasmettere agenti infettivi. Sono stati dosati i materiali di origine

umana e sono stati trovati non reattivi per la Sifilide; per gli Anticorpi Anti-HIV 1 e 2; per l'Antigene di Superficie dell'Epatite B; e per gli Anticorpi Anti-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.

Substrato Chemiluminescente: Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce solare diretta. (Vedi metodica).

Acqua: Utilizzare solo acqua distillata o deionizzata.

Materiali Forniti

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

Contenitore di Sferette Estriolo Non Coniugato (L2EF12)

Con codice a barre. 200 sferette coattate con un anticorpo policlonale di coniglio anti-estriolo. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KEF2: 1 confezione.

L2KEF6: 3 confezioni.

Porta Reagente Estriolo Non Coniugato (L2EFA2)

Con codice a barre. 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata' con estriolo in un tampone, con conservanti. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KEF2: 1 porta reagente.

L2KEF6: 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 Estriolo Non Coniugato (LEFL, LEFH)

Due flaconi (Basso ed Alto), 4 mL ciascuno, di estriolo non coniugato in una matrice di siero umano processato, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a

–20°C.

L2KEF2: 1 set. **L2KEF6:** 2 set.

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

Componenti del kit forniti separatamente

L2SUBM: Substrato Chemiluminescente

L2PWSM: Tampone di Lavaggio dell'Ago

L2KPM: Kit di Pulizia dell'Ago

LRXT: Tubi di Reazione (monouso)

Materiali richiesti

Acqua distillata o deionizzata; Provette.

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per prestazioni ottimali, è importante effettuare le procedure di manutenzione di routine cosiccome definite nel Manuale dell'Operatore IMMULITE 2000.

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

Intervallo di Calibrazione Consigliato:

2 settimane.

Campioni per il Controllo di Qualità:

Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (basso ed alto) di estriolo non coniugato.

Valori Attesi

E' stato effettuato uno studio sul range di riferimento utilizzando il dosaggio IMMULITE Estriolo Non Coniugato con una cross-sezione di 268 campioni provenienti da gravidanze nel terzo trimestre, con età gestazionale abbastanza uniformemente distribuita da 27 a 40 settimane. Tabulati di seguito, sia in unità di massa che molari, ci sono le mediane ed i range centrali al 95% di ogni settimana gestazionale, calcolati con un metodo parametrico globale. La statistica mostra, come atteso, una chiara tendenza verso valori più elevati in funzione dell'età gestazionale.

Età gestazionale	n	Estriolo Non Coniugato, ng/mL	
		Mediana	Range Centrale 95%
27	21	6,5	2,9 – 12,7
28	21	7,3	3,3 – 14,3
29	19	8,2	3,7 – 16,0
30	19	9,2	4,1 – 17,9
31	22	10,3	4,6 – 19,9
32	18	11,4	5,1 – 22,1
33	18	12,7	5,7 – 24,4
34	20	14,0	6,3 – 27,0
35	19	15,5	7,0 – 29,7
36	20	17,0	7,7 – >30
37	19	18,7	8,5 – >30
38	20	20,4	9,3 – >30
39	18	22,3	10,2 – >30
40	14	24,3	11,1 – >30

Età gestazionale	n	Estriolo Non Coniugato, nmol/L	
		Mediana	Range Centrale 95%
27	21	23	10 – 44
28	21	25	11 – 49
29	19	29	13 – 55
30	19	32	14 – 62
31	22	36	16 – 69
32	18	40	18 – 77
33	18	44	20 – 85
34	20	49	22 – 93
35	19	54	24 – 103
36	20	59	27 – >104
37	19	65	29 – >104
38	20	71	32 – >104
39	18	77	35 – >104
40	14	84	39 – >104

Considerare questi limiti soltanto come *linee guida*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

Limitazioni

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 con 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 i dati *rappresentativi* delle prestazioni del dosaggio. I risultati sono espressi in ng/mL. (Se non diversamente indicato, tutti i risultati sono stati generati da campioni di siero prelevati in tubi senza barriere di gel o additivi che favoriscano la coagulazione.)

Fattore di Conversione:

ng/mL × 3,467 → nmol/L

Range di Calibrazione: 0,25 – 30 ng/mL (0,87 – 104 nmol/L),

Sensibilità Analitica: 0,1 ng/mL

Precisione: I campioni sono stati elaborati in doppio in 20 giorni, due sedute al giorno, per un totale di 40 sedute ed 80 replicati. (Vedi tabella "Precision")

Linearità: I campioni sono stati dosati a varie diluizioni (Vedi tabella "Linearity" per dati rappresentativi).

Recupero: Sono stati dosati campioni cui sono state aggiunte tre soluzioni 1:19 di Estriolo Non Coniugato (27, 72 e 150 ng/mL). (Vedi tabella "Recovery" per dati rappresentativi).

Specificità: L'anticorpo è altamente specifico per l'estriolo non coniugato. (Vedi tabella "Specificity".)

Bilirubina: La presenza di bilirubina coniugata e non coniugata in concentrazioni fino a 200 mg/L non ha nessun effetto entro il range di precisione del dosaggio.

Emolisi: La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 512 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Lipemia: La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 3 000 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Tipi di Campioni Alternativi: Per determinare l'effetto di tipi di campioni alternativi, è stato prelevato del sangue da 18 volontari in provette semplici, eparinizzate, EDTA e Becton Dickinson vacutained SST.® Ad eguali volumi di campioni misti sono state aggiunte concentrazioni di estriolo per ottenere valori lungo tutto il range di calibrazione del dosaggio e quindi ridosati con il test IMMULITE 2000 Estriolo Non Coniugato. Mediante regressione lineare:

(Eparina) = 0,95 (Siero) – 0,03 ng/mL
r = 0,988

(EDTA) = 1,01 (Siero) – 0,15 ng/mL
r = 0,961

(SST) = 1,12 (Tubi semplici) – 0,05 ng/mL
r = 0,957

Valore Medio:

4,6 ng/mL (Siero)

4,3 ng/mL (Eparina)

4,8 ng/mL (EDTA)

5,1 ng/mL (Provette SST)

Comparazione di Metodi: Il dosaggio è stato comparato al Dosaggio IMMULITE Estriolo Non Coniugato su 71 campioni. (Range di concentrazione: circa da 1,0 a 26 ng/mL. Vedi grafico.) Mediante regressione lineare:

(IML 2000) = 1,29 (IML) + 0,38 ng/mL
r = 0,996

Valore medio:

8,0 ng/mL (IMMULITE 2000)

5,9 ng/mL (IMMULITE)

Assistenza Tecnica

All'Estero: contattare il proprio Distributore Nazionale.

Il Sistema Qualità della Diagnostic Products Corporation è certificato secondo le norme ISO 13485:2003.

Português

IMMULITE Estriol Livre

Utilização: Para o diagnóstico in vitro com o analisador IMMULITE 2000 para a determinação quantitativa do Estriol Livre (não conjugado) no soro, como ajuda na monitorização da maturidade e bem estar fetal no contexto da gravidez de alto risco e deficientemente datada.

Números de catálogo:

L2KEF2 (200 testes),

L2KEF6 (600 testes)

Código do teste: **FE3** Cor: **Azul claro**

Sumário e explicação do teste

A maior parte do Estriol circulante ou excretado durante o terceiro trimestre da gravidez é o resultado da produção do feto e da placenta, originário de um precursor sintetizado no feto pelas glandulas adrenais e, transformado pelo figado fetal e placenta em Estriol. Ao transpor a placenta este é rapidamente metabolizado, de inicio no figado materno em formas conjugadas: sulfatos de Estriol e glucoronidos. Como resultado obtemos; o Estriol livre, forma não conjugada, que representa cerca de nove por cento do Estriol total em circulação e o sulfato de Estriol que tem uma vida média relativamente longa. O Estriol urinário é constituído pelas formas conjugadas dado que sómente o estriol livre entra na circulação materna, enquanto que só as formas conjugadas são excretadas.

Em geral, á medida que o feto se desenvolve a produção de Estriol aumenta, dando origem a um crescimento três vezes o valor habitual dos níveis de Estriol em circulação no trimestre final, bem como um aumento correspondente nos níveis urinários. Existe uma típica curva cerca da 36ª semana. De acordo com a literatura as concentrações de Estriol livre e total atingem aproximadamente 15 e 250 ng/mL no termo, enquanto que a excreção urinária alcança aproximadamente 45 mg/dia. Após 40 semanas os níveis de Estriol decrescem gradualmente cerca de 12 % por semana.⁹

Ocorre uma variação considerável de doente para doente. Os valores de referência para uma determinada idade gestacional podem referir valores de Estriol de 50 a 200% do valor médio para determinada idade. Apesar de as tabelas obtidas através de muitas determinações seriadas serem muito mais significativas do que os resultados obtidos isoladamente. Níveis persistentes baixos ou com queda rápida de Estriol sugerem problemas fetais. Contudo dado que as concentrações de Estriol estão sujeitas a variações episódicas e diurnas, é comum referir os valores no soro em relação a uma referência, definida para a doente, em função da média do valor mais alto dos seus três mais recentes resultados de Estriol. Uma queda de 40% ou superior desta referência já é significativa.

Em conjunto com outras técnicas de monitorização fetal, determinações em série têm sido usadas no controle da gravidez, complicada pela diabetes,^{7,9} hipertensão, gestação prolongada e data incerta. Estas aplicações clínicas têm sido recentemente revistas.^{7,9,10,14}

Princípio do Procedimento

O Estriol Livre IMMULITE 2000 é um imunoensaio competitivo, quimioluminescente, de fase sólida.

Ciclos de incubação: 2 × 30 minutos.

Colheita

O uso de uma ultracentrifuga é recomendado para clarificar amostras lipémicas.

Amostras hemolizadas pode indicar tratamento deficiente da amostra antes de chegar ao laboratório. Assim os resultados devem ser interpretados com cuidado.

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.

Amostras colhidas em certos tipos de tubos com barreiras de gel têm mostrado

respostas diferentes aquelas obtidas com amostras colhidas em tubos lisos. Vêr a secção; tipos alternativos de amostra.

Amostras muito elevadas devem ser diluídas *manualmente* com o diluente apropriado.

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 Estriol Livre não foram ainda testados com todas as possíveis variações originadas pelos tipos de tubos. Consultar a secção Tipos de Amostras Alternativas para obter detalhes sobre os tubos que foram testados.

Volume de Amostra: 20 µL de soro.

Armazenagem: 7 dias a 2–8°C, ou 6 meses a –20°C.

Embora as amostras de soro se apresentem estáveis a –20°C, algumas observações não publicadas sugerem que um ligeiro aumento de aprox. 5–10%, pode ocorrer durante o armazenamento a estas temperaturas. Assim, é preferível guardar as amostras individuais a 2–8°C e dosear dentro de uma semana.

É importante que todas as amostras usadas para monitorizações seriadas de estriol livre sejam doseadas usando o mesmo método, e que todas sejam sujeitas às mesmas condições de armazenamento. Notar também que entre ensaios, fontes de variabilidade podem ser eliminadas, ensaiando (ou reensaando) todas as amostras num unico ensaio.

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 antigénio 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. Os códigos de barras no interior das caixas são necessários para o ensaio.

Embalagem de pérolas de Estriol livre (L2EF12)

Com código de barras. 200 pérolas, revestidas com anticorpo policlonal de coelho anti-estriol. Estável a 2–8°C até à data de expiração.

L2KEF2: 1 embalagem.

L2KEF6: 3 embalagens.

Embalagem de Reagente de Estriol livre (L2EFA2)

Com código de barras. 11,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugado a estriol em tampão, com conservante. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KEF2: 1 embalagem.

L2KEF6: 3 embalagens.

Antes de utilizar, retire a etiqueta de protecção da tampa deslizante; levante a tampa, remova o remanescente da etiqueta com o cuidado de não danificar o código de barras. Remova o selo de alumínio do topo da embalagem, encaixe a tampa deslizante nas ranhuras e verifique se a tampa desliza.

Ajustes de Estriol livre (LEFL, LEFH)

Dois frascos (baixo e alto), com 4 mL cada, de estriol livre numa matriz de soro humano processada, com conservante. Estável a 2–8°C por 30 dias depois de aberto, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

L2KEF2: 1 conjunto.

L2KEF6: 2 conjuntos.

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

Componentes do kit fornecidos separadamente

L2SUBM: Substrato quimioluminescente

L2PWSM: Solução de lavagem

L2KPM: Kit de limpeza do pipetador

LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)

Também necessário:

Água destilada ou desionizada; tubos de amostra.

Procedimento de 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 instruções sobre preparação, diluição, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável:

2 semanas.

Amostras de Control de qualidade:

Usar controlos ou pool de soros com pelo menos dois níveis (alto e baixo) de Estriol não conjugado.

Valores de Referência

Um estudo de referência foi executado usando o kit de IMMULITE Estriol não conjugado em 268 amostras no terceiro trimestre, com idades gestacionais das 27 a 40 semanas. Na tabela em baixo em unidades de massa e molar, estão as medianas e as zonas de 95% para cada semana gestacional, calculada por um método global paramétrico. As estatísticas mostram, como esperado um clara tendência para níveis mais altos em função da idade gestacional.

Semana Gestacional	n	Estríol não conjugado, ng/mL	
		Mediana	Central 95%
27	21	6,5	2,9 – 12,7
28	21	7,3	3,3 – 14,3
29	19	8,2	3,7 – 16,0
30	19	9,2	4,1 – 17,9
31	22	10,3	4,6 – 19,9
32	18	11,4	5,1 – 22,1
33	18	12,7	5,7 – 24,4
34	20	14,0	6,3 – 27,0
35	19	15,5	7,0 – 29,7
36	20	17,0	7,7 – >30
37	19	18,7	8,5 – >30
38	20	20,4	9,3 – >30
39	18	22,3	10,2 – >30
40	14	24,3	11,1 – >30

Semana Gestacional	n	Estríol não conjugado, nmol/L	
		Mediana	Central 95%
27	21	23	10 – 44
28	21	25	11 – 49
29	19	29	13 – 55
30	19	32	14 – 62
31	22	36	16 – 69
32	18	40	18 – 77
33	18	44	20 – 85
34	20	49	22 – 93
35	19	54	24 – 103
36	20	59	27 – >104
37	19	65	29 – >104
38	20	71	32 – >104
39	18	77	35 – >104
40	14	84	39 – >104

Considere estes limites apenas como *directrizes*. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores de referência.

Limitação

Os anticorpos heterofílicos 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 anômalos. Estes reagentes foram formulados para minimizar o risco de interferência, contudo podem ocorrer potenciais interações entre soros (raros) e componentes do teste. Para fins de diagnóstico, os resultados obtidos neste ensaio devem ser sempre analisados em combinação com o exame clínico, história de medicação do doente e outros achados que possam correlacionar.

Características do Ensaio

Consulte Tabelas e Gráficos para dados *representativos* do desempenho do doseamento. Os resultados são apresentados em ng/mL. (Salvo referência em contrário, todos os dados provêm de amostras de soro colhidas em tubos sem anticoagulantes, barreiras de gel ou aditivos promotores da coagulação.)

Factor de conversão:
ng/mL × 3,467 → nmol/L

Calibração: 0,25 – 30 ng/mL
(0,87 – 104 nmol/L),

Sensibilidade Analítica: 0,1 ng/mL

Precisão: Amostras foram processadas em duplicado num período de 20 dias, dois ensaios por dia, perfazendo um total de 40 ensaios e 80 réplicas. (Consulte a tabela "Precision".)

Linearidade: As amostras foram doseadas sob várias diluições. (Consulte a tabela "Linearity" para dados representativos.)

Recuperação: As amostras foram adicionadas a 1 para 19 com três soluções de estríol não conjugado (27, 72 e 150 ng/mL) e ensaiadas. (Vêr tabela de "Recovery" para dados representativos.)

Especificidade: O anticorpo é altamente específico para estríol não conjugado. (Vêr tabela de "Specificity".)

Bilirrubina: A presença de bilirrubina conjugada e não conjugada em concentrações até 200 mg/L não tem

efeito no procedimento dentro da precisão do ensaio.

Hemólise: A presença de hemoglobina em concentrações até 512 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

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

Tipo de amostra alternativa: de modo a testar o efeito de amostras alternativas foi colhido sangue de 18 voluntários em tubos lisos, heparinizados, com EDTA e tubos de vácuo Becton Dickinson SST®. Volumes iguais de amostras misturadas foram adicionados com várias concentrações de estriol, de modo a obter valores na zona de calibração do ensaio, e depois ensaiadas pelo método de IMMULITE 2000 Estriol não conjugado. Regressão linear:

(Heparina) = 0,95 (Soro) – 0,03 ng/mL
r = 0,988

(EDTA) = 1,01 (Soro) – 0,15 ng/mL
r = 0,961

(SST) = 1,12 (Tubos simples) – 0,05 ng/mL
r = 0,957

Médias:

4,6 ng/mL (Soro)

4,3 ng/mL (Heparina)

4,8 ng/mL (EDTA)

5,1 ng/mL (Tubos com SST)

Comparação de Métodos: O ensaio foi comparado ao aIMMULITE Estriol livre da DPC em 71 amostras. (Zona de trabalho: aproximadamente: 1,0 a 26 ng/mL. Consulte o gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 1,29 (IML) + 0,38 ng/mL
r = 0,996

Médias:

8,0 ng/mL (IMMULITE 2000)

5,9 ng/mL (IMMULITE)

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

O Sistema de Qualidade da Diagnostic Products Corporation está registado sob ISO 13485:2003.

DPC®

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

2005-07-11

PIL2KEF – 15



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