

 IMMULITE[®]
2000

Free Beta HCG

DPC[®]

IMMULITE[®] 2000 Free Beta HCG

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE 2000 Analyzer — for the quantitative measurement of free β -HCG subunit in serum.

Catalog Numbers: **L2KFB2** (200 tests), **L2KFB6** (600 tests)

Test Code: **FBC** Color: **Violet**

CDC Analyte Identifier Code: 2502
CDC Test System Identifier Code: 10418

Summary and Explanation

Human chorionic gonadotropin (HCG) is a glycoprotein hormone normally found in blood and urine only during pregnancy. It is secreted by placental tissue, beginning with the primitive trophoblast, almost from the time of implantation, and serves to support the corpus luteum during the early weeks of pregnancy. HCG or HCG-like material is also produced by a variety of trophoblastic and nontrophoblastic neoplasia.^{1,3,4,10}

Intact HCG is a 39,500 dalton molecule composed of two nonidentical subunits, α and β , that are bound to each other in a noncovalent manner. These subunits can also occur in a free, or unbound, form.^{6,8} Only intact HCG has biological activity. The HCG α subunit is structurally identical to the α subunit of the homologous pituitary glycoprotein hormones, luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and thyroid stimulating hormone. The β subunit is specific for each of these hormones, and confers upon them their differing biological activities. The β subunits of HCG and luteinizing hormone, however, are structurally quite similar, accounting for the essentially identical biological activities of these two hormones.⁶

Measurements of free β -HCG levels have been found to aid in the diagnosis and monitoring of trophoblastic diseases (moles, choriocarcinoma) and certain testicular tumors, where the ratios of the free β subunit to intact HCG can be quite high. Occasionally, tumors are found to secrete only free β -HCG subunit, and

virtually no intact HCG can be detected.^{5,7,9} Application in diagnosis and monitoring of tumor recurrence requires high sensitivity in the assay's low end, and careful interpretation is required (see Limitation section). Measurements of free β -HCG levels may also have value in the early monitoring of the outcome of *in vitro* fertilization procedures.²

Maternal serum free β -HCG assessment is reported to have significant utility in first- and second-trimester prenatal screening for Down syndrome and other chromosomal anomalies. A first-trimester combination of maternal age, serum PAPP-A and fetal nuchal translucency (NT) measurements might substantially increase the efficiency of prenatal screening compared to second-trimester screening; using this approach, various investigators have reported detection rates for Down syndrome of 85 to 90 percent at a 5 percent false-positive rate.^{12,13}

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 Free Beta HCG is a solid-phase, two-site sequential chemiluminescent immunometric assay.

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.

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 Free Beta HCG has not been tested with all possible variations of tube types.

Volume Required: 5 μ L serum.

Storage: 7 days at 2–8°C or longer at –20°C. Avoid repeated freeze/thaw cycles.

Dilution of High Samples: Samples expected to have free β -HCG levels above the assay's calibration range should be diluted with HCG Sample Diluent (L2CGZ) before assay.

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.

Free Beta HCG Bead Pack (L2FB12)

With barcode. 200 beads, coated with monoclonal murine anti-free β -HCG antibody. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KFB2: 1 pack. **L2KFB6:** 3 packs.

Free Beta HCG Reagent Wedge (L2FBA2)

With barcode. 11.5 mL of protein buffer matrix. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to polyclonal goat anti-free β -HCG antibody

in buffer, with preservative. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KFB2: 1 wedge. **L2KFB6:** 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.

Free Beta HCG Adjustors (LFBL, LFBH)

Two vials (Low and High) of lyophilized free β -HCG in a human serum-based matrix, with preservative. Reconstitute each vial with 3.0 mL distilled or deionized water. Mix by gentle swirling or inversion until the lyophilized material is fully dissolved. Stable at 2–8°C for 30 days after reconstitution, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

L2KFB2: 1 set. **L2KFB6:** 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

HCG Sample Diluent (L2CGZ)

For the on-board dilution of high samples. 50 mL of concentrated (ready-to-use) HCG-free human serum. Storage: 30 days (after opening) at 2–8°C or 6 months (aliquotted) at –20°C.

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

L2CGZ: 5 labels

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate

L2PWSM: Probe Wash

L2KPM: Probe Cleaning Kit

LRXT: Reaction Tubes (disposable)

L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 x 100 mm)

L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

LFBCM: Tri-level, human serum based control module containing free β -HCG

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: 2 weeks.

Quality Control Samples: Use controls or sample pools with at least two levels (low and high) of free beta HCG.

Expected Values

The reference range for healthy males, nonpregnant females and post-menopausal females can be expected to be less than 0.1 ng/mL.

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

Limitation

Notice that the analytical sensitivity of the assay is 0.1 ng/mL and it is generally recognized that a free beta HCG assay should have a lower detection limit of < 0.1 ng/mL for an application in monitoring and detection of trophoblastic and testicular tumors. Thus, appropriate interpretation is needed when the assay is used for this application.

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, where 1 ng/mL of free β -HCG is equivalent to 1 mIU/mL of free β -HCG in terms of the World Health Organization's First International Reference Preparation of Chorionic Gonadotrophin Beta Subunit Human, number 75/551 (1st IRP 75/551).

Unless otherwise noted, all results were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.

Calibration Range: Up to 200 ng/mL

Analytical Sensitivity: 0.1 ng/mL

High-dose Hook Effect: None up to at least 190,000 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.)

Recovery: Samples spiked 1 to 19 with three free β -HCG solutions (70, 700 and 2,000 ng/mL) were assayed. (See "Recovery" table.)

Specificity: The antibody is highly specific for the free β subunit of HCG. (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 540 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.

Method Comparison: The assay was compared to a commercially available Free Beta HCG assay (Kit A) on 145 samples. (Concentration range: approximately 1 to 150 ng/mL. See graph.) By linear regression:

$$(IML\ 2000) = 0.97 (\text{Kit A}) + 2.7\ \text{ng/mL}$$

$$r = 0.991$$

Means:
48.1 ng/mL (IMMULITE 2000)
47.0 ng/mL (Kit A)

References

1) Clayton L, Tyrey L, Weed JC Jr, Hammond CB. Endocrine aspects of trophoblastic neoplasia. *J Reprod Med* 1981;26:192-9. 2) Cole LA, Restrepo-Candelo H, Lavy G, Decherney A. HCG free β -subunit an early marker of outcome of *in vitro* fertilization clinical pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab* 1987;64:1328-30. 3) Kohorn EI. Hydatidiform mole and gestational trophoblastic disease in southern Connecticut. *Obstet Gynecol* 1982;59:78-84. Erratum: the first diagram belongs with the caption to Figure 3, and vice versa. 4) Kosasa TS. Measurement of human chorionic gonadotropin. *J Reprod Med* 1981;26:201-6. 5) Light PA, Forster JP, Felton T, Eckert H, Toverly KC. Molecular heterogeneity in chorionic gonadotropin in some testicular cancer patients. *Lancet* 1983;1:1284. 6) Norman RJ, Buck RH, De Medeiros SF. Measurement of human chorionic gonadotropin (hCG): indications and techniques for the clinical laboratory. *Ann Clin Biochem* 1990;27:183-94. 7) Ozturk M, Berkowitz R, Goldstein D, Bellet D, Wands JR. Differential production of human chorionic gonadotropin and free subunits in gestational trophoblastic disease. *Am J Obstet Gynecol* 1988;158:193-8. 8) Pierce JG, Parsons TF. Glycoprotein hormones: structure and function [review]. *Ann Rev Biochem* 1981;50:465-95. 9) Saller B, Clara R, Spottl G, Siddle K, Mann K. Testicular cancer secretes intact human chorionic gonadotropin (hCG) and its free β -subunit: evidence that hCG (+hCG- β) assays are the most reliable in diagnosis and follow-up. *Clin Chem* 1990;36:234-9. 10) Vaitukaitis JL. Human chorionic gonadotropin – a hormone secreted for many reasons. *N Eng J Med* 1979;301:324-6. 11) National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard. 4th ed. NCCLS Document H3-A4, Wayne, PA: NCCLS, 1998. 12) Bindra R, *et al.* One-stop clinic for assessment of risk for trisomy 21 at 11-14 weeks: a prospective study of 15,030 pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2002;3:219-25. 13) Wald NJ, Hackshaw AK. Advances in antenatal screening for Down syndrome. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2000;14(4):563-80.

Technical Assistance

Available outside the United States only.
For technical assistance, contact your
National Distributor.

Manufactured by EURO/DPC Ltd. under a
Quality System 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	0.91	0.04	4.4%	0.06	6.6%	
2	2.66	0.08	3.0%	0.11	4.1%	
3	17.0	0.34	2.0%	0.55	3.2%	
4	27.8	0.58	2.1%	0.86	3.1%	
5	60.2	1.05	1.7%	2.10	3.5%	
6	111	3.13	2.8%	4.37	3.9%	
7	164	4.62	2.8%	8.16	5.0%	

Linearity (ng/mL)

	Dilution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	16 in 16 ⁵	14.1	—	—
	8 in 16	7.4	7.1	104%
	4 in 16	3.6	3.5	103%
	2 in 16	1.7	1.8	94%
	1 in 16	0.88	0.88	100%
2	16 in 16	17.3	—	—
	8 in 16	8.4	8.7	97%
	4 in 16	4.1	4.3	95%
	2 in 16	2.1	2.2	95%
	1 in 16	1.0	1.1	91%
3	16 in 16	55.7	—	—
	8 in 16	29.8	27.9	107%
	4 in 16	15.0	13.9	108%
	2 in 16	7.2	7.0	103%
	1 in 16	3.7	3.5	106%
4	16 in 16	100	—	—
	8 in 16	50.6	50.0	101%
	4 in 16	25.9	25.0	104%
	2 in 16	12.5	12.5	100%
	1 in 16	5.9	6.3	94%

Recovery (ng/mL)

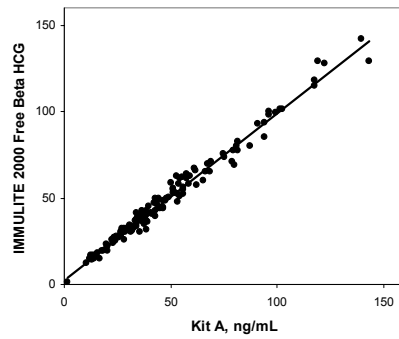
	Solution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	—	ND	—	—
	A	3.7	3.5	106%
	B	36.0	35.0	103%
	C	107	100	107%
2	—	3.3	—	—
	A	7.0	6.6	106%
	B	37.5	38.1	98%
	C	105	103	102%
3	—	7.1	—	—
	A	10.6	10.2	104%
	B	42.7	41.7	102%
	C	111	107	104%
4	—	11.5	—	—
	A	15.0	14.4	104%
	B	46.4	45.9	101%
	C	112	111	101%
5	—	29.3	—	—
	A	32.3	31.3	103%
	B	64.6	62.8	103%
	C	129	128	101%

Specificity

Compound ¹	ng/mL Added ²	Apparent ng/mL ³	% Cross-reactivity ⁴
HCG α subunit	3,500	0.52	ND
Intact HCG	10,200	0.24	ND
FSH	100,000	ND	ND
LH	100,000	0.17	ND
TSH	150,000	ND	ND

ND: not detectable.⁵

Method Comparison



(IML 2000) = 0.97 (Kit A) + 2.7 ng/mL
r = 0.991

Deutsch. Precision: ¹Intra-Assay, ²Gesamt, ³Mittelwert, ⁴S (Standardabweichung), ⁵CV (Variationskoeffizient). **Linearity:** ¹Verdünnung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E, ⁵16 in 16. **Recovery:** Lösung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E. **Specificity:** ¹Verbindung, ²zugesetzte Menge, ³Gemessene Konzentration, ⁴% Kreuzreaktivität, ⁵NN: Nicht nachweisbar. **Method Comparison:** Free Beta HCG: Freies Beta-HCG.

Español. Precision: ¹Intraensayo, ²Total, ³Media, ⁴DS, ⁵CV. **Linearity:** ¹Dilución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E, ⁵16 in 16. **Recovery:** ¹Solución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E. **Specificity:** ¹Compuesto, ²Cantidad añadida, ³Concentración aparente, ⁴% Reacción cruzada, ⁵ND: no detectable. **Method Comparison:** Free Beta HCG: Beta HCG Libre.

Français. Precision: ¹Intraessai, ²Total, ³Moyenne, ⁴SD, ⁵CV. **Linearity:** ¹Dilution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴% O/A, ⁵16 dans 16. **Recovery:** ¹Solution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴% O/A. **Specificity:** ¹Composé, ²ajouté, ³Concentration apparente, ⁴Réaction croisée %, ⁵ND: non détectable. **Method Comparison:** Free Beta HCG: β hCG Libre.

Italiano. Precision: ¹Intra-serie, ²Totale, ³Media, ⁴SD (Deviazione Standard), ⁵CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity:** ¹Diluizione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴% O/A, ⁵16 in 16. **Recovery:** ¹Soluzione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴% O/A. **Specificity:** ¹Composto, ²quantità aggiunta, ³Concentrazione apparente, ⁴Percentuale di Crossreattività, ⁵ND: non determinabile. **Method Comparison:** Free Beta HCG: Free Beta HCG.

Português. Precision: ¹Entre-ensaios, ²Total, ³Média, ⁴Desvio padrão, ⁵Coefficiente de variação. **Linearity:** ¹Diluição, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E, ⁵16 em 16. **Recovery:** ¹Solução, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E. **Specificity:** ¹Composto, ²Quantidade adicionada, ³Apparent Concentration,

⁴Percentagem de reacção cruzada. ⁵ND: não detectável. **Method Comparison:** Free Beta HCG Beta HCG Livre.

Deutsch

Freies Beta-HCG

Anwendung: Für *in-vitro*-diagnostische Tests mit dem Analysegerät IMMULITE 2000 – zur quantitativen Messung von freiem β -HCG im Serum.

Artikelnummern: **L2KFB2** (200 Tests), **L2KFB6** (600 Tests)

Testcode: **FBC** Farbe: **violett**

Klinische Relevanz

Humanes Choriongonadotropin (HCG) ist ein Glycoprotein, das normalerweise nur während der Schwangerschaft im Blut und Urin nachweisbar ist. Beginnend mit der Implantation wird es vorwiegend in der Placenta synthetisiert und dient der Unterstützung des Corpus luteum während der ersten Schwangerschaftswochen. Daneben werden HCG bzw. dem HCG ähnliche Substanzen auch von einer Reihe trophoblastischer und nicht-trophoblastischer Neoplasien gebildet.^{1,3,4,10}

Das intakte HCG hat ein Molekulargewicht von 39 500 Dalton und setzt sich aus zwei als α - und β - Untereinheit bezeichneten Untereinheiten zusammen, die nicht kovalent miteinander gebunden sind. Diese Untereinheiten können daher auch in freier oder ungebundener Form vorliegen.^{6,8} Nur das zusammengesetzte intakte Molekül ist biologisch aktiv. Die α -Untereinheit ist identisch mit den α -Untereinheiten der homologen Hypophysenhormone FSH, LH und TSH. Die zugeordnete β -Untereinheit ist für das jeweilige Hormon spezifisch und somit für die unterschiedliche biologische Aktivität verantwortlich. Die β Untereinheiten des HCG und des LH sind strukturell sehr ähnlich, worin die im wesentlichen gleiche biologische Aktivität dieser beiden Hormone begründet liegt.⁶

Die Messung des freien β -HCG hat sich bei der Diagnose und Verlaufskontrolle von Trophoblasttumoren (Blasenmole, Chorionkarzinom) und Hodentumoren als

hilfreich erwiesen. Es konnte gezeigt werden, daß das Verhältnis freies β -HCG / intaktes HCG von prognostischer Wertigkeit ist. Es wurde ebenfalls von Tumoren berichtet, die ausschließlich die freie β -HCG Untereinheit sezernieren, während kein intaktes HCG nachweisbar war. Die Anwendung zur Diagnose und Monitoring von rezidivierenden Tumoren erfordert eine hohe Sensitivität im niedrigen Konzentrationsbereich des Assays, ebenso ist eine sorgfältige Interpretation erforderlich (siehe "Grenzen der Methode"). Daneben gibt die Messung des freien β -HCG zusätzliche Informationen bei der Überwachung von *in-vitro*-Fertilisationen.²

Es ist beschrieben worden, dass die Bestimmung des freien β -HCG im Serum von signifikantem Nutzen im Erst- und Zweittrimesterscreening zum Nachweis der Trisomie 21 und andere Chromosomenanomalien ist. Die Kombination von Alter der Mutter, PAPP-A im Serum und der Messung des fetalen Nackenödems (nuchal translucency, NT) kann die Effizienz des Pränatalscreenings im Vergleich zum Zweittrimesterscreening beträchtlich erhöhen. Verschiedene Autoren haben für diese Kombination eine Nachweisrate für die Trisomie 21 zwischen 85% und 90% bei einer falsch-positiv Rate von 5% publiziert.^{12,13}

Methodik

Der IMMULITE 2000 Freies Beta-HCG ist ein Festphasen-, sequenzieller Zweischritt-, Chemilumineszenz-, Immunometrischer Assay.

Inkubationszyklen: 2 × 30 Minuten.

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 mit Vorsicht zu interpretieren.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnungen führen. Um fehlerhaften Analyseergebnissen infolge von Gerinnungen vorzubeugen, ist

sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter Antikoagulantien-therapie können eine verlängerte Gerinnungszeit aufweisen.

Blutentnahmeröhrchen von verschiedenen Herstellern können differierende Werte verursachen. Dies hängt von den verwendeten Materialien und Additiven (Gel oder physische Trennbarrieren, Gerinnungsaktivatoren und /oder Antikoagulantien) ab. IMMULITE 2000 Freies Beta-HCG sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden.

Erforderliche Menge: 5 µl Serum.

Lagerung: 7 Tage bei 2–8°C oder länger bei –20°C. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen vermeiden.

Verdünnung von Proben hoher

Konzentration: Proben, deren erwartete Ergebnisse größer als der Messbereich sein können, sollten vor dem Einsetzen mit dem HCG-Verdünnungsreagenz (L2CGZ) verdünnt 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 sind aufeinander abgestimmt. Die Aufkleber auf der Innenverpackung werden zur Testdurchführung gebraucht.

Freies β-HCG Kugel-Container (L2FB12)

Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit freien-β-HCG-Antikörpern (monoklonal, Maus). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

L2KFB2: 1 Container.

L2KFB6: 3 Container.

Freies β-HCG Reagenzbehälter (L2FBA2)

Mit Barcode. 11,5 ml einer Proteinpuffer-Matrix. 11,5 ml alkalische Phosphatase konjugiert mit freien-β-HCG-Antikörpern (polyklonal, Ziege) in Puffer, mit Konservierungsstoffen. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

L2KFB2: 1 Behälter. **L2KFB6:** 3 Behälter.

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

Freies β-HCG Kalibratoren (LFBL, LFBH)

Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) jeweils mit lyophilisiertem freien β-HCG in einer humanen Serum-Matrix, mit Konservierungsstoffen. Die Fläschchen mit je **3,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. Zum Mischen leicht schwenken oder umdrehen, bis das lyophilisierte Material vollständig aufgelöst ist. Nach Rekonstituierung 30 Tage bei 2–8°C, sonst 6 Monate (aliquotiert) bei –20°C haltbar.

L2KFB2: 1 Set.

L2KFB6: 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

HCG-Verdünnungspuffer (L2CGZ)

Zur automatischen Verdünnung von Proben hoher Konzentration. Es enthält 50 ml Konzentrat (gebrauchsfertig) eines prozessierten HCG-freien Humanserums. Lagerung: 30 Tage (nach Öffnen) bei 2–8°C oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).

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

L2CGZ: 5 Etiketten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul

L2PWSM: Waschmodul

L2KPM: Reinigungsmodul

LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße

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

L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

LFBCM: Ein auf Humanserum basierendes, β -HCG enthaltendes Kontrollmodul in drei Konzentrationen.

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser;
Teströhrchen; 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:
2 Wochen.

Qualitätskontrollproben: Kontrollen oder Poolseren mit freies β -HCG in mindestens zwei Konzentrationen (niedrig und hoch) verwenden.

Referenzwerte

Für gesunde Männer, nichtschwangere Frauen und post-menopausale Frauen werden Werte < 0,1 ng/ml erwartet.

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

Grenzen der Methode

Bitte beachten Sie, dass die analytische Sensitivität des Assays 0,1 ng/ml beträgt. Es ist allgemein akzeptiert, daß zur Anwendung im Monitoring und im Nachweis von trophoblastischen, sowie testikulären Tumoren ein freier β -HCG Assay eine Sensitivität von < 0,1 ng/ml haben sollte. Daher ist für diese Anwendung des Assays eine geeignete Interpretation erforderlich.

Heterophile Antikörper in Humanseren 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 angegeben, wobei 1 ng/ml freies β -HCG 1 mIU/ml freies β -HCG entspricht, bezogen auf den WHO- Standard 75/551 (World Health Organisation's First International Reference Preparation of Chorionic Gonadotropin Beta Subunit Human, 1st IRP 75/551).

Alle Daten wurden – sofern nicht anders angegeben – aus Serumproben in

Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.

Messbereich: Bis 200 ng/ml

Analytische Sensitivität: 0,1 ng/ml

High-Dose-Hook-Effect: mindestens 190 000 ng/ml keiner.

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. (Siehe Tabelle "Linearity" für repräsentative Daten.)

Wiederfindung: Proben wurden mit drei Lösungen (70, 700 und 2 000 ng/ml) im Verhältnis 1:19 versetzt. (Siehe Tabelle "Recovery" für repräsentative Daten.)

Spezifität: Der Antikörper ist hochspezifisch für die freie β -Untereinheit des HCG. (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 540 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.

Methodenvergleich: Dieses Testsystem wurde unter Verwendung von 145 Patientenproben mit einem im Handel erhältlichen Freies- β -HCG -Assay (Kit A) verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 1 – 150 ng/ml, Siehe Grafik). Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 0,97 (Kit A) + 2,7 ng/ml
 $r = 0,991$

Mittelwerte:
48,1 ng/ml (IMMULITE 2000)
47,0 ng/ml (Kit A)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre DPC Niederlassung.

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

Español

Beta HCG Libre

Utilidad del análisis: Para en el diagnóstico *in vitro* con el Analizador IMMULITE 2000 — para la medida cuantitativa de la subunidad β -HCG libre en suero.

Referencia: **L2KFB2** (200 tests),
L2KFB6 (600 tests)

Código del Test: **FBC**
Código de Color: **Violeta**

Resumen y Explicación del Test

La Gonadotropina Corionica Humana (HCG) es una hormona de la familia de las glicoproteínas que se detecta en sangre y orina solamente en el embarazo. Es secretada por la placenta, empezando con el inicio del trofoblasto, desde el momento de la implantación, y sirve de apoyo al cuerpo luteo durante las primeras semanas del embarazo. HCG o HCG-análogos también son producidos por diversas células neoplásicas trofoblásticas y no trofoblásticas.^{1,3,4,10}

HCG intacta es una molécula de 39 500 dalton compuesta de dos subunidades, α y β , que se unen entre si de forma no covalente. Estas subunidades pueden aparecer de forma libre, o sin capacidad de unión.^{6,8} Solamente HCG intacta posee actividad biológica. La subunidad α -HCG es estructuralmente idéntica a la subunidad α -HCG de otras hormonas glicoproteicas análogas de la pituitaria, Hormona Luteinizante (LH), Foliculo estimulante (FSH) y Estimuladora del Tiroides TSH. La subunidad β es en cambio específica de estas hormonas y les confiere sus diferentes actividades biológicas. La subunidad β de HCG y LH, de todas formas, son estructuralmente muy similares, a tener en cuenta

considerando las actividades biológicas de estas dos hormonas.⁶

La determinación de los niveles de β -HCG libre son una ayuda al diagnóstico y seguimiento de enfermedades trofoblásticas (molas, coriocarcinoma) y ciertos tumores testiculares, donde los ratios entre la subunidad β y la HCG intacta pueden ser algo elevados. Ocasionalmente, se encuentran tumores que solo secretan β -HCG libre no detectándose nada de HCG intacta.^{5,7,9} Su aplicación en la diagnóstico y monitorización de la recurrencia de tumores requiere una alta sensibilidad del ensayo, y una interpretación muy cuidadosa (véase "Limitación"). Determinaciones de β -HCG libre pueden tener valor en la monitorización temprana de los procedimientos de fertilización in vitro.²

Se ha publicado que la determinación de β -HCG libre en suero materno tiene una utilidad significativa en el screening del primer y segundo trimestre para el síndrome de Down y otras anomalías cromosómicas. En el primer trimestre, una combinación de la edad materna, los niveles séricos de PAPP-A y la medida de la translucencia nucal (NT) deben incrementar sustancialmente la eficiencia del screening prenatal en comparación con el screening del segundo trimestre; usando esta aproximación, varios investigadores han publicado eficiencias de detección, con un 5% de falsos positivos, del 85 al 90%.^{12,13}

Principio del Análisis

IMMULITE 2000 Beta HCG Libre es un ensayo secuencial inmunométrico con dos sitios de unión quimioluminiscente en fase sólida.

Ciclos de incubación: 2 x 30 minutos.

Recogida de la muestra

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.

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 Beta HCG Libre IMMULITE 2000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos.

Volumen requerido: 5 μ l de suero.

Conservación: 7 días a 2–8°C, o más tiempo a –20°C. Evitar las congelaciones y descongelaciones repetidas.

Dilución de Muestras: Las muestras con niveles de β -HCG libre superiores al rango de calibración deben ser diluidas con suero humano libre de HCG antes del ensayo (L2CGZ).

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico in vitro.

Reactivos: Mantener a 2–8°C. Desechar de acuerdo a la legislación en vigor.

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 reacción de β -HCG Libre (L2FB12)

Con código de barras. 200 bolas de reacción, recubiertas con anticuerpo monoclonal murino anti- β -HCG libre. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KFB2: 1 cartucho

L2KFB6: 3 cartuchos

Vial de Reactivo β -HCG Libre (L2FBA2)

Con código de barras. 11,5 ml de matriz proteica en solución tampón, con conservante. 11,5 ml fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugado con un anticuerpo policlonal de cabra anti- β -HCG libre específico para β -HCG, en una solución tampón con conservante. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KFB2: 1 vial. **L2KFB6:** 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 HCG Beta Libre (LFBL, LFBH)

Dos viales (bajo y alto) de liofilizada β -HCG libre en una matriz de suero humano, con conservante. Reconstituya cada vial con **3,0 ml** de agua destilada o desionizada. Mezcle por agitación o inversión suave hasta que se haya disuelto completamente el material liofilizado. Estable a 2–8°C durante 30 días después de la reconstitución o hasta 6 meses (alícuotados) a –20°C.

L2KFB2: 1 juego. **L2FB6:** 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

Diluyente de muestras de HCG (L2CGZ)

Para la dilución de muestras de alta concentración dentro del equipo. 50 ml de un concentrado (listo para su uso) de suero humano procesado libre de HCG. Conservación: 30 días (después de su apertura) a 2–8°C o 6 meses (alícuotado) a –20°C.

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.

L2CGZ: 5 etiquetas

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 Muestra

LFBCM: Un módulo control sintético de suero humano, de tres niveles, que contiene libre de β -HCG

También necesarios

Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles.

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: Use controles o pools de muestras con dos niveles diferentes, como mínimo, de β -HCG libre (bajo y alto).

Valores esperados

El rango de referencia para hombres sanos, mujeres no gestantes y post-

menopáusicas puede esperarse que sea menor de 0,1 ng/ml.

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

Limitación

Advierta que la sensibilidad analítica del ensayo es 0,1 ng/ml y está ampliamente reconocido que el ensayo de beta HCG debería tener un límite de detección inferior de < 0,1 ng/ml para la aplicación en la monitorización y detección de tumores trofoblásticos y testiculares. Por lo tanto, es necesaria una interpretación apropiada cuando el ensayo se utiliza para esta aplicación.

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

Los resultados de β -HCG libre se expresan como nanogramos por mililitro (ng/ml), siendo 1 ng/ml de β -HCG libre equivalente a 1 mUI/ml de β -HCG libre en relación con la Primera Preparación de Referencia Internacional de la Organización Mundial de la Salud de Subunidad Beta de Gonadotropina Coriónica Humana, número 75/551 (1° IRP 75/551).

A menos que se especifique lo contrario, todos los resultados se obtuvieron con muestras de suero recogidas en tubos sin

anticoagulantes, geles separadores o aditivos promotores de la coagulación.

Intervalo de calibración: Hasta 200 ng/ml

Sensibilidad analítico: 0,1 ng/ml

Efecto de gancho a altas dosis: Ninguno hasta como mínimo 190 000 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: Se han analizado las muestras cargadas 1 a 19 con tres soluciones de HCG Beta Libre (70, 700 y 2 000 ng/ml). (Ver la tabla "Recovery" para resultados representativos.)

Especificidad: El anticuerpo es altamente específico para la subunidad de β libre de HCG. (Véase 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.

Hemólisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 540 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.

Comparación de los métodos: El ensayo se comparó con un ensayo de Beta HCG Libre disponible en el mercado (Kit A) en 145 muestras. (Intervalo de concentración: approximately 1 to 150 ng/ml. Véase el gráfico.) Por regresión lineal:

(IML 2000) = 0,97 (Kit A) + 2,7 ng/ml
r = 0,991

Medias:
48,1 ng/ml (IMMULITE 2000)
47,0 ng/ml (Kit A)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

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

Français

IMMULITE 2000 β hCG Libre

Domaine d'utilisation : Dosage quantitatif de la sous-unité β libre de l'hCG dans le sérum. Ce test est réservé à un usage diagnostique *in vitro* avec l'analyseur IMMULITE 2000.

Référence catalogue :

L2KFB2 (200 tests), **L2KFB6** (600 tests)

Code produit : **FBC** Code couleur : **violet**

Introduction

La gonadotrophine chorionique humaine (hCG) est une hormone glycoprotéique normalement retrouvée dans le sang et l'urine uniquement pendant la grossesse. Elle est sécrétée par le placenta, tout d'abord par le trophoblaste primitif, presque aussitôt après la nidation, et apporte un soutien au corps jaune au cours des premières semaines de la grossesse. Des molécules hCG ou apparentées sont également produites par divers néoplasmes trophoblastiques et non-trophoblastiques.^{1,3,4,10}

L'hCG intacte est une molécule de 39 500 daltons composée de deux sous-unités différentes α et β , reliées de façon non covalente. Ces sous-unités peuvent également être retrouvées sous forme non-liée ou forme libre.^{6,8} Seule l'hCG intacte a une activité biologique. La sous-unité α -hCG est structurellement identique à la sous-unité α d'hormones homologues : hormones glycoprotéiques hypophysaires, LH, FSH et thyrotropine (TSH). La sous-unité β est particulière à chacune de ces hormones et rend compte de leurs différentes activités biologiques. Néanmoins, les sous-unités β de l'hCG et de la LH sont structurellement tout à fait similaires, ce que traduisent les propriétés biologiques essentiellement identiques de ces deux hormones.⁶

On a montré que le dosage de la β -hCG libre apportait une aide au diagnostic et au suivi des maladies trophoblastiques (môles, chorio-épithéliome placentaire) et de certaines tumeurs testiculaires, où le ratio de la sous-unité β libre rapportée à l'hCG intacte peut être très élevé. Parfois, des tumeurs sécrètent uniquement de la sous-unité β -hCG libre et quasiment aucune hCG intacte n'est détectée.^{5,7,9} Le diagnostic et le suivi d'une récurrence tumorale nécessite une sensibilité importante dans la limite basse du domaine de mesure ainsi qu'une interprétation minutieuse du résultat (voir "Limites"). Le dosage de la sous-unité β -hCG libre peut également être utile au suivi précoce de l'issue d'une fécondation *in vitro*.²

La détermination du taux de β -hCG libre dans le sérum maternel démontre une utilité significative lors des 1^{er} et 2nd trimestres dans le dépistage prénatal de la Trisomie 21 et d'autres anomalies chromosomiques. Lors du 1^{er} trimestre, utilisée en combinaison avec l'information sur l'âge de la mère, le dosage de PAPP-A et la mesure de la clarté nucale (CN) du fœtus, elle peut augmenter substantiellement l'efficacité du dépistage prénatal comparée à un dépistage du 2nd trimestre. En utilisant cette méthode, plusieurs chercheurs ont reporté des taux de détection de la Trisomie 21 de 85 à 90% avec un taux de faux positifs de 5%.^{12,13}

Principe du test

Le test IMMULITE 2000 β hCG Libre est un dosage immunométrique séquentiel chimiluminescent en phase solide.

Cycles d'incubation : 2 x 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.

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 β hCG Libre IMMULITE 2000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles.

Volume nécessaire : 5 μ l de sérum.

Conditions de conservation : 7 jours à +2°C/+8°C ou plus longtemps à -20°C. Eviter les cycles de congélation-décongélation.

Dilution des échantillons élevés: Les échantillons suspectés d'avoir un taux de β -hCG libre supérieur au domaine de mesure du dosage doivent être dilués avec le diluant échantillon (L2CGZ) avant le dosage.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique in vitro.

Réactifs : Conserver les réactifs à +2°/+8 °C. Éliminer les déchets conformément aux lois 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 β -hCG libre (L2FB12)

Avec code-barre. 200 billes, revêtues d'anticorps monoclonal murin anti- β -HCG libre. Stable à +2/ +8°C jusqu'à la date de péremption.

L2KFB2: 1 cartouche.

L2KFB6: 3 cartouches.

Cartouche à réactif β -hCG libre (L2FBA2)

Avec code-barre. 11,5 ml d'une matrice protéique tamponnée. 11,5 ml d'anticorps polyclonal de chèvre anti β -HCG libre conjugué à de la phosphatase alcaline (intestins de veaux) dans un tampon, avec conservateur. Stable à +2/ +8°C jusqu'à la date de péremption.

L2KFB2: 1 cartouche.

L2KFB6: 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 β hCG Libre (LFBL, LFBH)

2 flacons d'ajusteurs ("bas" et "haut") lyophilisés, contenant de la β -hCG libre dans une matrice de sérum humain avec conservateur. Reconstituer chaque flacon avec **3,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Mélanger doucement jusqu'à complète dissolution de la substance lyophilisée. Stable à +2°C/+8°C pendant 30 jours après reconstitution ou 6 mois (aliquoté) à -20°C.

L2KFB2: 1 jeu. **L2KFB6**: 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

Diluant échantillon hCG (L2CGZ)

Pour la dilution automatique des échantillons élevés. 50 ml de sérum humain concentré exempt d'hCG (prêt à l'emploi). Stockage : 30 jours (après ouverture) à +2°C/+8°C ou 6 mois (aliquoté) à -20°C.

Les étiquettes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 x 100 mm de telle façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur interne.
L2CGZ : 5 étiquettes

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 x 100 mm)

L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

LFBCM: Contrôle à base de sérum humain, à 3 niveaux, contenant de la β HCG libre.

Egalement requis

Eau distillée ou désionisée ; tubes à essai ; Contrôle.

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 β hCG libre.

Valeurs de référence

La valeur de référence pour un homme en bonne santé, une femme non-enceinte ou

une femme ménopausée est habituellement inférieure à 0,1 ng/ml.

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

Limites

Merci de noter que la sensibilité analytique du test est de 0,1 ng/ml et qu'il est généralement reconnu qu'un dosage de Beta hCG libre devrait avoir une limite de détection basse < 0,1 ng/ml pour une utilisation dans le dépistage et le suivi des tumeurs trophoblastiques ou testiculaires. Une interprétation adaptée est donc nécessaire pour ce cas là.

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 exprimés en ng/ml, où 1 ng/ml de β -hCG libre est équivalent à 1 mIU/ml de β -hCG libre d'après *la Première Préparation Internationale de Référence 75/551* de l'OMS pour la sous-unité β de l'hCG.

En l'absence de précision supplémentaire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques prélevés sur tubes sans gel, ni activateur de la coagulation.

Intervalle de linéarité : jusqu'à 200 ng/ml

Sensibilité analytique : 0,1 ng/ml

Accoutumance aux doses élevées :
aucune jusqu'à au moins 190 000 ng/ml

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

Test de dilution : les échantillons ont été testés avec des taux de dilution variés. (Voir le tableau « Linearity » pour des données représentatives.)

Récupération: les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions d'hCG. (70, 700 et 2 000 ng/ml). (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : l'anticorps utilisé est hautement spécifique de la sous-unité β de l'hCG (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 540 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.

Comparaison de méthodes: le test a été comparé à la version commerciale d'un dosage de la β -hCG libre (coffret A), sur 145 échantillons. (intervalle de concentrations : environ de 1 à 150 ng/ml. Voir graphique.) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 0,97 (Kit A) + 2,7 ng/ml
 $r = 0,991$

Moyennes :
48,1 ng/ml (IMMULITE 2000)
47,0 ng/ml (Coffret A)

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

Beta-HCG libera

Uso: Per prove diagnostiche *in vitro* con l'analizzatore IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa della sottounità Beta-HCG libera nel siero.

Codice: **L2KFB2** (200 test),
L2KFB6 (600 test)

Codice del Test: **FBC** Colore: **violetto**

Riassunto e spiegazione del Test

La gonadotropina corionica umana (HCG) è un'ormone glicoproteico che si ritrova normalmente nel sangue e nell'urina soltanto durante la gravidanza. Viene eliminato dai tessuti della placenta, iniziando dal trofoblasto primitivo, subito dopo l'impianto, e serve per sostenere il corpo luteo durante le prime settimane di gravidanza. L'HCG o materiali HCG-simili viene prodotto da una varietà di neoplasie trofoblastiche e non trofoblastiche.^{1,3,4,10}

L'HCG intatto è una molecola di 39 500 dalton composto da due sottounità non identiche, α e β , che sono collegate l'una all'altra in maniera non covalente. Queste sottounità possono presentarsi in forma libera, o non legata.^{6,8} L'HCG intatto ha soltanto un'attività biologica. La sottounità α HCG è strutturalmente identica alla sottounità α degli ormoni ipofisari glicoproteici omologhi, l'ormone luteinizzante, l'ormone che stimola i follicoli e l'ormone che stimola la tiroide. La sottounità β è specifica per ognuno di questi ormoni e conferisce loro attività biologiche diverse. Comunque, la sottounità β e l'ormone luteinizzante sono molto simili strutturalmente, e ciò costituisce la ragione di attività biologiche essenzialmente identiche.⁶

Si è riscontrato che le misurazioni dei livelli di β -HCG libero costituiscono un ausilio nella diagnosi ed nel monitoraggio delle malattie trofoblastiche (il nevo pigmentoso, il coriocarcinoma) ed alcuni tumori testicolari, in cui i rapporti della sottounità β libera verso l'HCG intatto sono piuttosto elevati. A volte, si è riscontrato che i tumori eliminano soltanto

la sottounità β -HCG libero e l'HCG intatto è difficilmente rilevato.^{5,7,9} L'applicazione nella diagnosi e nel monitoraggio della recidiva tumorale richiede un'elevata sensibilità del dosaggio low end ed un'attenta interpretazione (vedi Limiti). Le misurazioni dei livelli di β -HCG possono essere utili anche nel monitoraggio dei risultati delle procedure di fecondazione in vitro.²

Le determinazioni della β -HCG Libera nel siero materno hanno una notevole utilità nello screening prenatale per la Sindrome di Down e per altre anomalie cromosomiche nel primo e nel secondo trimestre di gravidanza. La combinazione nel primo trimestre di gravidanza dell'età materna legata al rischio, delle determinazioni della PAPP-A nel siero e della translucenza nucale fetale (NT) possono sostanzialmente aumentare l'efficienza dello screening Prenatale comparato allo screening eseguito nel secondo trimestre; con l'utilizzo di questo approccio, alcuni studiosi hanno individuato dei limiti di rilevazione per la Sindrome di Down dell'85–90% con un 5% di falsi positivi.^{12,13}

Principio del Dosaggio

Il dosaggio IMMULITE 2000 β -HCG libero è un dosaggio immunometrico sequenziale a due siti chemiluminescente in fase solida.

Cicli d'incubazione: 2 × 30 minuti.

Raccolta dei campioni

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.

La centrifugazione dei campioni del 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 Beta-HCG Libera non è stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette.

Volume richiesto: 5 μ L di siero

Conservazione: 7 giorni a 2–8°C o per una conservazione più estesa a –20°C. Evitare cicli di congelamento/scongelamento ripetuti.

Diluizione di Campioni Elevati:

Campioni con valori attesi di β -HCG Libera al di sopra del range di calibrazione devono essere diluiti con il Diluente del Campione HCG (L2CGZ) prima del dosaggio.

Avvertenze e precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

Reagenti: Conservare a 2–8°C. Eliminare secondo le normative di legge vigenti.

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'antigene 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 Beta HCG Libera (L2FB12)

Con codice a barre. 200 biglie, coattate con un anticorpo monoclonale murino anti-

β -HCG libera. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KFB2: 1 Confezione.

L2KFB6: 3 Confezione.

Porta Reagente Beta HCG Libera (L2FBA2)

Con codice a barre. 11,5 mL di una matrice/tampone proteica. 11,5 mL di fosfatasi alcalina (Intestino di vitello) coniugata con un anticorpo policlonale di capra anti- β -HCG Libera in un tampone, con conservanti. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KFB2: 1 Porta Reagente.

L2KFB6: 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.

Regolatori Beta-HCG Libera (LFBL, LFBH)

Due flaconi (Basso ed Alto), ciascuno con Beta-HCG Libera liofilo in una matrice a base di siero umano, con conservanti.

Ricostituire ogni flacone con **3,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Mescolare agitando delicatamente o invertendo la miscela finché il materiale liofilo sia completamente dissolto. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo la ricostituzione, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

L2KFB2: 1 set. **L2FB6:** 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

Diluyente dell'HCG (L2CGZ)

Per la diluizione interna dei campioni ad elevata concentrazione. 50 mL di siero umano concentrato pronto all'uso privo di HCG. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura o a –20°C per 6 mesi (aliquotato).

Vengono Fornite Le provette da utilizzarsi con il diluyente. Prima dell'utilizzo, collocare una etichetta appropriata su una

provetta 16 x 100 mm, cosicché il codice a barre possa essere letto dal lettore interno

L2CGZ: 5 etichette

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

LFBCM: Un modulo di controllo a tre livelli basato sul siero umano che contiene il Beta-HCG Libera.

Materiali richiesti

Acqua distillata o deionizzata; Provette; controlli.

Procedura del Dosaggio

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

Vedi 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 della qualità:

Usare i controlli o campioni di urina con alimento due livelli (basso ed alto) della beta-HCG libera.

Valori Attesi

Ci si attende che il range di riferimento per uomini sani, donne non gravide, e donne post-menopausa sia inferiore a 0,1 ng/mL.

Considerare questi limiti *soltanto come linee guida*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire le proprie gamme di riferimento.

Limiti

Attenzione la sensibilità analitica del dosaggio è 0.1 ng/mL ed è generalmente riconosciuto che un dosaggio della beta HCG libera dovrebbe avere un limite di rilevazione più basso di <0,1 ng/mL per essere utilizzato nel monitoraggio e nella rilevazione dei tumori trofoblastici e testicolari. E' necessaria, quindi, un'idonea

interpretazione quando il dosaggio viene utilizzato per questa applicazione.

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

Vedere le tabelle e le grafiche per i dati *rappresentativi* delle prestazioni della prova. I risultati sono espressi in ng/mL, dove 1 ng/mL di Beta-HCG libera è l'equivalente di 1 mIU/mL di Beta-HCG libera in conformità alla prima preparazione Internazionale di Riferimento della sottounità Beta Gonadotropina Corionica umana dell'organizzazione mondiale della sanità, numero 75/551 (1st IRP 75/551).

Se non è notato altrimenti, tutti i risultati sono stati generati nei campioni di siero raccolti in tubi senza barriere di gelatina o additivi che promuovono la coagulazione.

Range di calibrazione: Fino a 200 ng/mL

Sensibilità analitica: 0,1 ng/mL

Effetto Gancio a Dosi Elevate: Nessun effetto fino a almeno 190 000 ng/mL

Precisione: I campioni sono stati elaborati in doppio da 20 giorni, due esecuzioni al giorno, per un totale di 40 esecuzioni e 80 ripetizioni. (Vedi la Tabella "Precision.")

Linearità: I campioni sono stati provati sotto varie diluzioni (Vedere la tabella "Linearity" per i dati rappresentativi).

Recupero: Sono stati analizzati i campioni etichettati da 1 a 19 con tre soluzioni di

HCG (70, 700 e 2 000 ng/mL). (Vedere la tabella "Recovery" per i dati rappresentativi.)

Specificità: L'anticorpo è molto specifico per il la sottounità β del HCG libera. (Vedere la 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 540 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.

Paragone dei metodi: La prova è stata paragonata ad una prova della Beta HCG Libera disponibile sul mercato (Kit A) in 145 campioni. (Range di concentrazione: circa da 1 a 150 ng/mL. Vedere la grafica.) Mediante regressione lineare:

$(IML\ 2000) = 0,97\ (Kit\ A) + 2,7\ ng/mL$
 $r = 0,991$

Valore medio:
48,1 ng/mL (IMMULITE 2000)
47,0 ng/mL (Kit A)

Assistenza tecnica

Contattare il distributore nazionale.

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

Português

Beta HCG Livre

Utilização: Para uso diagnóstico *in vitro* com o Analisador IMMULITE 2000 — para a medição quantitativa de subunidade β -HCG livre em soro.

Números de catálogo:
L2KFB2 (200 testes),
L2KFB6 (600 testes)

Código do teste: **FBC** Cor: **Violeta**

Sumário e explicação do teste

A gonadotropina coriônica humana (HCG) é uma hormona glicoproteica normalmente presente no sangue e na urina apenas durante a gravidez. É segregada pelo tecido placentário, começando com o trofoblasto primitivo, quase a partir do tempo da sua implementação e serve para apoiar o corpo lúteo durante as primeiras semanas de gravidez. A HCG ou material tipo HCG é também produzido por uma variedade de neoplasias trofoblásticas e não trofoblásticas.^{1,3,4,10}

A HCG intacta é uma molécula de 39 500 daltons composta de duas subunidades não idênticas, alfa e beta, que são ligadas entre si de uma forma não covalente. Essas subunidades podem também ocorrer numa forma livre ou não ligada.^{6,8} Apenas a HCG intacta tem actividade biológica. A subunidade alfa de HCG é idêntica estruturalmente à subunidade alfa das hormonas de glicoproteína pituitária homólogas, hormonas luteinizante, hormonas estimulantes do folículo e hormona estimulante da tiróide. A subunidade beta é específica para cada uma dessas hormonas, e confere-lhes as suas actividades biológicas diferentes. As subunidades betas de HCG e hormonas luteinizante, contudo, são estruturalmente bastante semelhantes, sendo responsáveis pelas actividades biológicas essencialmente idênticas desses duas hormonas.⁶

As medidas dos níveis β -HCG livre têm sido comprovadas como auxiliar no diagnóstico e na monitorização de doenças trofoblásticas (molas, coriocarcinomas), e em determinados tumores testiculares, onde as proporções de subunidade beta livre para o HCG intacto podem ser bastante altas. Ocasionalmente, os tumores são comprovados segregar apenas subunidades β -HCG livre, e virtualmente nenhum HCG intacto pode ser detectado.^{5,7,9} A utilização no diagnóstico e monitorização da recorrência de tumores necessita de alta sensibilidade na zona baixa dos ensaios e é necessária uma interpretação cuidadosa (ver Limitação). As medidas dos níveis de β -HCG livre podem também ter valor na monitorização precoce dos resultados dos procedimentos de fertilização *in vitro*.²

A determinação no soro materno de β -HCG livre tem sido referenciado como tendo uma utilidade significativa na detecção do risco pré-natal no 1º e 2º trimestre para o Síndrome de Down e outras anomalias cromossómicas. No 1º trimestre uma combinação da idade materna, e a determinação de PAPP-A no soro, bem como a medida da transducência da nuca fetal (NT) podem aumentar substancialmente a eficiência do rastreio pré-natal comparando com o rastreio do 2º trimestre. Usando estas determinações vários investigadores referenciaram taxas de detecção para o Síndrome de Down na ordem dos 85–90% com uma taxa de falsos positivos de 5%.^{12,13}

Princípio do procedimento

IMMULITE 2000 Beta HCG Livre é um solid-phase, assay immunometric chemiluminescent seqüencial do dois-local.

Ciclos de incubação: 2 x 30 minutos.

Colheita

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.

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 Beta HCG Livre não foram ainda testados com todas as possíveis variações originadas pelos tipos de tubos.

Volume de amostra: 5 µL de soro.

Estabilidade: 7 dias a 2–8°C, ou maior a –20°C. Evite ciclos repetidos de congelamento/descongelamento.

Diluição de amostras elevadas : As amostras em que se esperem valores de β-HCG livres acima dos valores da curva de calibração devem ser diluídas com o diluente de amostras de HCG (L2CGZ) antes do ensaio.

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Eliminar 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. Os códigos de barras no interior das caixas são necessárias para o ensaio.

Embalagem de pérolas de Beta HCG livre (L2FB12)

Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com anticorpo monoclonal murino anti β-HCG livre: Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KFB2: 1 embalagem.

L2KFB6: 3 embalagens.

Embalagem de Reagente de Beta HCG livre (L2FBA2)

Com código de barras. Contém 11,5 mL de matriz proteica. Contém 11,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugada com anticorpo policlonal de cabra anti β-HCG livre em tampão, com conservante. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KFB2: 1 embalagem.

L2KFB6: 3 embalagens.

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. 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 Beta HCG Livre (LFB1, LFBH)

Contém dois frascos (nível alto e baixo) de Beta HCG Livre liofilizada numa matriz baseada em soro humano com conservante. Reconstitua cada frasco com **3,0 mL** de água destilada ou desionizada. Misture por inversão ou movimentos lentos até o material liofilizado dissolver completamente. Estável, após a reconstituição, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

L2KFB2: 1 conjunto.

L2KFB6: 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

Diluente da amostra para HCG (L2CGZ)

Para diluição de amostras no aparelho. 50 mL de concentrado pronto a usar, constituído por soro humano, processado, livre de HCG. Estabilidade: 30 dias (após abertura) a 2–8°C ou 6 meses (em alíquotas) a –20°C.

Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 x 100 mm) de modo a que o código de

barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.

L2CGZ: 5 etiquetas

L2SUBM: Substrato quiomoluminescente

L2PWSM: Solução de lavagem

L2KPM: Kit de limpeza do pipetador

LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)

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

L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

LFBCM: control de soro humano com três níveis.

Também necessário

Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos.

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

Intervalo entre ajustes aconselhável:
2 semanas.

Amostras de controlo de qualidade:
Utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de Beta HCG Livre.

Valores de Referência

A faixa de referência para homens saudáveis, mulheres não grávidas e mulheres pós-menopausa pode ser calculada como menos de 0,1 ng/mL.

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

Limitação

Ter em atenção que a sensibilidade analítica do ensaio é de 0,1 ng/mL e é geralmente reconhecido que o ensaio de HCG Livre deve ter um limite de detecção mínimo de < 0,1 ng/mL para utilização na monitorização e detecção de tumores

trofoblásticos e testiculares. Embora, seja necessária uma interpretação cuidada e adequada quando este ensaio é usado com esta finalidade.

Os anticorpos heterófilicos 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

Ver tabelas e gráficos para dados representativos da performance do doseamento. Os resultados são expressos em ng/mL, onde 1 ng/mL de beta-HCG livre é equivalente a 1 mIU/mL de beta-HCG livre em termos da preparação de referência internacional da subunidade humana de beta-gonadotropina coriónica da organização mundial de saúde, número 75/551 (1st IRP 75/551).

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.

Calibração: Até 200 ng/mL

Sensibilidade Analítica: 0,1 ng/mL

Efeito Hook de Alta Dose: nenhum até um mínimo 190 000 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. (Ver a tabela de "Precision")

Linearidade: As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição.

(Ver a tabela de "Linearity" para dados representativos.)

Recuperação: Às amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 com três soluções (70, 700 e 2 000 ng/mL) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

Especificidade: O doseamento é específico para subunidade livre de HCG. (Ver tabela de "Specificity".)

Bilirrubina: A presença de bilirubina 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 540 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.

Comparação de Métodos: O doseamento foi comparado com um doseamento de Beta- HCG livre disponível comercialmente (kit A) em 145 amostras. (Zona de trabalho: aproximadamente: 1 a 150 ng/mL. Consulte o gráfico.) Regressão linear:

$(IML\ 2000) = 0,97\ (Kit\ A) + 2,7\ ng/mL$
 $r = 0,991$

Médias:

48,1 ng/mL (IMMULITE 2000)
47,0 ng/mL (Kit A)

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

2005-03-31

PIL2KFB – 11



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