IMMULITE® 2000

Digitally signed by Roman Constantin
Date: 2021.05.07 12:24:32 EEST
Reason: MoldSign Signature
Location: Moldova

AFP

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 AFP

English

IMMULITE 2000 AFP

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

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

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

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

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

Summary and Explanation

Alpha-fetoprotein (AFP) is a single-chain glycoprotein with a molecular mass of approximately 70,000 daltons. AFP shares considerable sequence homology with albumin, and is produced by the fetus primarily in cells of the yolk sac, gastrointestinal tract and liver. AFP appears as a major serum protein in the fetus, but its concentration decreases rapidly toward birth.[1,2,3] The reappearance of elevated AFP concentrations in adult serum has been observed not only during pregnancy, but also in conjunction with several benign and malignant diseases.

Testicular Cancer

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

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

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

Serial measurements of serum AFP have been shown to reflect the effectiveness of therapeutic regimens in patients with nonseminomatous testicular tumors.[9,15,17,26,27] Post-surgical

determinations of AFP are particularly valuable. The presence of residual tumor is strongly suggested if post-operative AFP concentrations fail to return to normal.[9,15,28,29] The accurate interpretation of post-surgical changes in AFP concentration requires consideration of its metabolic decay rate.[21,22,24,25] When utilizing AFP for monitoring therapy or disease recurrence during chemotherapy, it should be noted that levels often fall rapidly during chemotherapy, reaching normal levels while tumor masses are still evident.[17,21] In such instances, completion of the planned therapy has been recommended.[21]

Following therapy or surgery, serial measurements of AFP have also proved clinically useful when monitoring for progression or recurrence of disease in patients with nonseminomatous testicular cancer. It has been reported that AFP levels frequently rise during disease progression and fall during disease remission.[9,17,18] Elevated AFP levels have frequently been observed to accompany tumor recurrence before progressive disease is clinically evident.[9,18]

Fetal Open Neural Tube Defects

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

Measurement of AFP concentrations is clinically valuable in screening for open NTDs and other fetal abnormalities;[35] pregnancies associated with open NTDs present with elevated AFP levels. Excess AFP gains access to amniotic fluid, and to a lesser extent to the maternal serum, by transudation across the exposed surface of the fetus or across damaged glomeruli.[35,37] These conditions are found in open NTDs including open spina bifida and anencephaly, omphalocele, and congenital nephrosis.[32,38] Additional causes of elevated AFP concentrations including both maternal and fetal sources are impending spontaneous abortion, fetal distress or death, oligohydramnios, toxemia, gastroschisis, Meckel's syndrome, sacrococcygeal teratoma, Turner's syndrome and maternal hepatic and oncologic disorders.[35]

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

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

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

concentrations, all clinical information should be evaluated and confirmatory tests performed wherever possible before reaching a diagnosis.

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

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

Principle of the Procedure

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

Incubation Cycles: 2 × 30 minutes

Specimen Collection

Serum: Collect blood by venipuncture[31] into plain tubes and separate the serum from the cells as soon as possible. Specimens must be obtained before amniocentesis to obtain a valid specimen.

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

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

Icteric or grossly contaminated samples may give erroneous results.

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

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

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

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

Volume Required

Serum: 10 µL

Amniotic fluid: 10 µL of prediluted amniotic fluid specimen

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

Storage

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

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

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.

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

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

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

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

Water: Use distilled or deionized water.

Materials Supplied

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

AFP Bead Pack (L2AP12)
With barcode. 200 beads, coated with murine monoclonal anti-AFP. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KAP2: 1 pack **L2KAP6:** 3 packs

AFP Reagent Wedge (L2APA2)
With barcode. 11.5 mL of a protein buffer/nonhuman serum matrix; and 11.5 mL of alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to polyclonal rabbit anti-AFP, in buffer. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KAP2: 1 wedge **L2KAP6:** 3 wedges

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

AFP Adjustors (L2APJ3, L2APJ4)
Two vials (Low and High), 2.0 mL each, of AFP in a bovine serum matrix. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KAP2: 1 set **L2KAP6:** 2 sets

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

Kit Components Supplied Separately

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

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

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

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate
L2PWSM: Probe Wash
L2KPM: Probe Cleaning Kit
LRXT: Reaction Tubes (disposable)
L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

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 Systems Operator's Manual.

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

Recommended Adjustment Interval: 4 weeks

Quality Control Samples: Follow government regulations or accreditation requirements for quality control frequency.

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

Siemens Healthcare Diagnostics recommends the use of commercially available quality control materials with at least 2 levels (low and high). A satisfactory level of performance is achieved when the analyte values obtained are within the Acceptable Control Range for the system, or within an established range determined by an appropriate internal laboratory quality control scheme.

Expected Values

AFP Values in Testicular Cancer Patients

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

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

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

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

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

Patients with nonseminomatous testicular cancer can be expected to have a

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

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

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

AFP Values in Maternal Serum and Amniotic Fluid

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

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

Gestational Week	No. of Specimens	Medians IU/mL*	Multiples of Regressed Medians (IU/mL) 2.0	2.5	3.0
15	370	24.9	49.8	62.3	74.7
16	605	28.5	57.0	71.3	85.5
17	569	32.6	65.2	81.5	97.8
18	431	37.2	74.4	93.0	111.6
19	221	42.5	85.0	106.3	127.5
20	91	48.6	97.2	121.5	145.8

*Regressed

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

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

*Regressed

Limitations

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

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

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

Heterophilic antibodies in human serum can react with the immunoglobulins included in the assay components causing interference with *in vitro* immunoassays. [See Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34: 27-33.] Samples from patients routinely exposed to animals or animal serum products can demonstrate this type of interference potentially causing an anomalous result. These reagents have been formulated to minimize the risk of interference; however, potential interactions between rare sera and test components can occur. For diagnostic purposes, the results obtained from this assay should always be used in combination with the clinical examination, patient medical history, and other findings.

Performance Data

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

Conversion Factor:
IU/mL $\times$ 1.21 $\rightarrow$ ng/mL

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

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

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

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

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

Recovery: Serum samples spiked 1-in-20 with three AFP solutions (286, 700 and 1324 IU/mL) were assayed. Amniotic samples spiked 1-in-20 with three high amniotic fluid samples (10,000, 20,000 and 36,000 IU/mL) were also assayed. (See "Recovery" tables for representative data.)

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

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

Biotin: Specimens that contain biotin at a concentration of 3500 ng/mL demonstrate a less than or equal to 10% change in results.

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

Lipemia: Presence of lipemia in concentrations up to 3000 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

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

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

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

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

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

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

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

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

In one of the the studies above, IMMULITE 2000 AFP results were compared to Kit B in a linear regression for **amniotic fluid** samples, in the range from nondetectable to 286 kIU/mL*.

(IML 2000) = 0.79 (Kit B) + 2.27 kIU/mL
r = 0.99
n = 200

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

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

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

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

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

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

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

The assay was also compared to IMMULITE AFP on maternal serum samples, in the range from approximately 10 to 120 IU/mL. By linear regression:

(IML 2000) = 1.01 (IML) + 0.154 IU/mL
r = 0.982
n = 346

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

95% Confidence Interval (CI)	Slope	Intercept
Lower	0.99	–0.60
Upper	1.03	0.91

Clinical Sensitivity for Maternal Serum, n = 9:

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

Clinical Specificity for Maternal Serum:

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

Clinical Sensitivity for Amniotic Fluid, n = 8:

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

Clinical Specificity for Amniotic Fluid:

Gestational Week	*n*	% ≤ 2.0 MoM	% ≤ 2.5 MoM	% ≤ 3.0 MoM
15	53	100%	100%	100%
16	50	98.0%	100%	100%
17	28	100%	100%	100%
18	20	100%	100%	100%
19	13	92.3%	100%	100%
20	10	100%	100%	100%
15–20	174	98.9%	100%	100%
95% CI for All Samples		95.9%–99.9%	97.9%–100%	97.9%–100%

References

Testicular Cancer

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

Fetal Open Neural Tube Defects

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

Technical Assistance

In the United States, contact Siemens Healthcare Diagnostics Technical Services department. Tel: 877.229.3711. Outside the United States, contact your National Distributor.

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

Precision (IU/mL)

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

Linearity (IU/mL) – Serum

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

Linearity (IU/mL) – Amniotic Fluid

	Total Dilution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	1 in 100[5]	153	—	—
	1 in 200	76	77	99%
	1 in 400	37	38	97%
	1 in 800	19	19	100%
	1 in 1600	9.0	9.6	94%
	1 in 3200	4.6	4.8	96%
2	1 in 100	190	—	—
	1 in 200	91	95	96%
	1 in 400	47	48	98%
	1 in 800	24	24	100%
	1 in 1600	13	12	108%
	1 in 3200	5.9	5.9	99%
3	1 in 100	268	—	—
	1 in 200	139	134	104%
	1 in 400	68	67	101%
	1 in 800	33	34	97%
	1 in 1600	17	17	100%
	1 in 3200	8.6	8.4	103%

Recovery (IU/mL) – Serum

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

Recovery (IU/mL) – Amniotic Fluid

Low Amniotic Sample[1]	Spiking High Amniotic Sample[2]	Observed[3]	Expected[4]	%O/E[5]
1	—	303	—	—
	A	805	788	102%
	B	1347	1288	105%
	C	2142	2088	103%
2	—	4203	—	—
	A	4306	4493	96%
	B	6404	4993	128%
	C	5714	5793	99%
3	—	8398	—	—
	A	8849	8478	104%
	B	9437	8978	105%
	C	10,567	9778	108%

Specificity

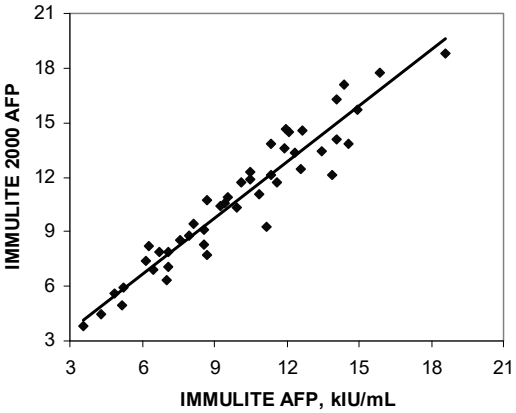
Compound[1]	Amount Added[2]	% Cross reactivity[3]
Human Serum Albumin	60 mg/mL	ND
Human Transferrin	400 mg/dL	ND
Human Hemoglobin	192 mg/dL	ND
Cyclophosphamide	1000 µg/mL	ND
Doxorubicin HCl	100 µg/mL	ND
Cisplatin	100 µg/mL	ND
Vincristine	1000 ng/mL	ND
5-Fluorouracil	1000 µg/mL	ND
Mitomycin C	100 µg/mL	ND

ND: not detectable[4]

Bilirubin

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

Method Comparison – Amniotic Fluid:



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

Deutsch. **Precision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]S (Standardabweichung), [5]CV (Variationskoeffizient). **Linearity – Serum**: [1]Verdünnung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E, [5]8 in 8. **Linearity – Amniotic Fluid**: [1]Gesamten Verdünnung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E, [5]1 in 100. **Recovery – Serum**: [1]Lösung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E. **Recovery – Amniotic Fluid**: [1]Niedrige Fruchtwasser-Proben, [2]Spiking hoch Fruchtwasser-Proben, [3]Beobachten (B), [4]Erwarten (E), [4]% B/E. **Specificity**: [1]Verbindung, [2]zugesetzte Menge, [3]% Kreuzreaktivität, [4]NN: Nicht nachweisbar. **Bilirubin.** [1]Bilirubin (unconjugiert), [2]Erwarten (E), [3]Beobachten (B), [4]% B/E

Español. **Precision**: [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV. **Linearity – Serum**: [1]Dilución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 en 8. **Linearity – Amniotic Fluid**: [1]Dilución total, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]1 en 100. **Recovery – Serum**: [1]Solución, [2]Observado (O), [3]Esperad0 (E), [4]%O/E. **Recovery – Amniotic Fluid**: [1]Muestra de bajo contenido de líquido amniótico, [2]Inoculación de muestra de alto contenido de líquido amniótico, [3]Observado (O), [4]Esperado (E), [5]%O/E. **Specificity**: [1]Compuesto, [2]Cantidad añadida, [3]% Reacción cruzada, [4]ND: no detectable. **Bilirubin.** [1]Bilirrubina (no conjugado), [2]Esperado (E), [3]Observado (O), [4]%O/E.

Français. **Precision**: [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]SD, [5]CV. **Linearity – Serum**: [1]Dilution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A, [5]8 dans 8. **Linearity – Amniotic Fluid**: [1]Dliution total, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A, [5]1 dans 100. **Recovery – Serum**: [1]Solution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A. **Recovery – Amniotic Fluid**: [1]Échantillon amniotique faible, [2]Échantillon amniotique élevé pour dilution, [3]Observé (O), [4]Attendu (A), [5]%O/A. **Specificity**: [1]Composé, [2]ajouté, [3]Réaction croissée %. [4]ND: non détectable. **Bilirubin.** [1]Bilirubine (non-conjugué), [2]Attendu (A), [3]Observé (O), [4]%O/A.

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity – Serum**: [1]Diluizione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A, [5]8 in 8. **Linearity – Amniotic Fluid**: [1]Diluizione totale, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A, [5]1 in 100. **Recovery – Serum**: [1]Soluzione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A. **Recovery – Amniotic Fluid**: [1]Liquido amniotico bassa, [2]Spiking liquido amniotico alta, [3]Osservato (O), [4]Atteso (A), [5]%O/A. **Specificity**: [1]Composto, [2]quantità aggiunta, [3]Percentuale di Crossreattività, [4]ND: non determinabile. **Bilirubin.** [1]bilirubina (non coniugato), [2]Atteso (A), [3]Osservato (O), [4]%O/A.

Português. **Precision**: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação. **Linearity – Serum**: [1]Diluição, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 em 8. **Linearity – Amniotic Fluid**: [1]Diluição total, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]1 em 100. **Recovery – Serum**: [1]Solução, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Recovery – Amniotic Fluid**: [1]Amostra amniótica baixa, [2]Divisão da Amostra amniótica elevada, [3]Observado (O), [4]Esperado (E), [5]%O/E. **Specificity**: [1]Composto, [2]Quantidade adicionada, [3]Percentagem de reacção cruzada, [4]ND: não detectável. **Bilirubin.** [1]bilirrubina (não-conjugado), [2]Esperado (E), [3]Observado (O), [4]%O/E.

Deutsch

IMMULITE 2000 AFP

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

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

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

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

Klinische Relevanz

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

Hodenkrebs

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

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

Metastasen haben.[9,16,18,19] Auch bei Patienten mit fortgeschrittenem Seminom und Leberfunktionsstörung traten unter Chemotherapie erhöhte AFP-Werte auf.[20] Die Interpretation erhöhter AFP-Werte bei Seminom-Patienten erfordert spezielle Überlegungen und sollte den Klinikern in der Wahl einer entsprechenden Therapie unterstützen.[8,15,21]

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

Serielle Messungen des Serum-AFP spiegeln die therapeutische Effizienz bei Patienten mit nicht-seminomatösem Hodenkarzinom wider.[9,15,17,26,27] Die postoperative Bestimmung des AFP ist teilweise wichtig. Wenn sich die postoperativen AFP-Werte nicht normalisieren, muß dies als starker Verdacht auf einen Resttumor gewertet werden.[9,15,28,29] Die korrekte Interpretation postoperativer AFP-Konzentrationen muß unter Berücksichtigung der physiologischen Halbwertszeit des AFP erfolgen.[21,22,24,25] Wenn das AFP zum Therapie-Monitoring oder zur Verlaufskontrolle unter Chemotherapie verwendet wird, sollte berücksichtigt werden, daß die AFP-Spiegel während der Therapie oft schnell abfallen (bis in den Referenzbereich Gesunder), obwohl der Tumor noch nachweisbar ist.[17,21] In diesen Fällen wird die Fortsetzung der geplanten Therapie empfohlen.[21]

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

Fötale offene Neuralrohrdefekte

AFP kann nicht nur im fötalen Serum, sondern auch im Fruchtwasser und im mütterlichen Serum nachgewiesen werden. Beim AFP existiert ein Konzentrationsgradient: Wenn der AFP-Spiegel im fötalen Serum bei 2000 kIU/ml liegt, so werden im Fruchtwasser (AFAFP) 20 kIU/ml und im mütterlichem Serum (MSAFP) 0,02 kIU/ml gemessen. In einer normalen Schwangerschaft können im fötalen Serum in der 14. Gestationswoche die höchsten Werte nachgewiesen werden.[34] ImFruchtwasser sind in der 12. Gestationswoche und im mütterlichen Serum zwischen der 28. und 32. Gestationswoche die höchsten AFP-Konzentrationen zu finden.[36] Das Absinken der AFAFP-Konzentrationen spiegelt das Absinken des fötalen AFP wieder, was auf die Erhöhung des Fötusgröße und des Flüssigkeitsvolumens zurückzuführen ist.[34] Erhöhte MSAFP- und AFAFP-Werte werden meistens durch Mehrlingsschwangerschaften oder durch ein falsches Gestationsalter bedingt.

Die Bestimmung des AFP ist klinisch sehr wertvoll beim Screening zur Bestimmung eines offenen Neuralrohresdefektes und anderer fötaler Abnormitäten.[35] Schwangerschaften mit einem offenen Neuralrohrdefekt beim Fötus gehen mit erhöhten AFP-Werten einher. Durch Transudation entlang der exponierten Oberfläche des Fötus oder durch geschädigte Glomeruli gelangt überschüssiges AFP in das Fruchtwasser und in einem geringeren Ausmaß auch in das mütterliche Serum.[35,37] Diese Bedingungen werden bei offenem Neuralrohrdefekt, offener Spina bifida, Anenzephalie, Omphalozele und kongenitaler Nephrose gefunden.[32,38] Erhöhte AFP Werte mütterlichen oder fötalen Ursprungs zeigen drohende Spontanaborte, fötalen Stress oder Tod, Oligohydramnie, Toxämie, Gastroschisis, Meckel Syndrom, Sacrococcygealteratom, Turner Syndrom und mütterliche hepatische oder onkologische Erkrankungen an.[35]

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

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

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

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

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

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

Methodik

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

Inkubationszyklen: 2 × 30 Minuten

Probengewinnung

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

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

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

Ikterische oder grob kontaminierte Proben können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter Antikoagulantientherapie können eine verlängerte Gerinnungszeit aufweisen.

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

AFP sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden.

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

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

Erforderliche Menge

Serum: 10 µl

Fruchtwasser: 10 µl der vorverdünnten Fruchtwasser-proben

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

Lagerung

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

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

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *in vitro*-Diagnostik.

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.

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

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

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

Chemilumineszenz–Substratmodul: Kontaminationen sowie direkte Sonnenlichteinwirkungen müssen vermieden werden (siehe Packungsbeilage).

Wasser: Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser benutzen.

Im Lieferumfang enthalten

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

AFP Kugel-Container (L2AP12)
Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit monoklonalem AFP-Antikörper (Maus). Gekühlt (2–8°C) haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum.
L2KAP2: 1 Container
L2KAP6: 3 Container

Behälter für AFP-Reagenzien (L2APA2)
Mit Barcode. Ein Behälter mit 11,5 ml nicht-humane Puffer/ Serum-Matrix sowie und 11,5 ml alkalische Phosphatase (Kalb) konjugiert mit polyklonalem AFP-Antikörper (Kaninchen) in einer Pufferlösung. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KAP2: 1 Behälter **L2KAP6:** 3 Behälter

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

AFP- Kalibratoren (L2APJ3, L2APJ4)
Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) mit jeweils 2 ml AFP in einer Serum-Matrix (Rind). Nach dem Öffnen 30 Tage bei 2–8°C, sonst 6 Monate (aliquotiert) bei –20°C haltbar.
L2KAP2: 1 Set **L2KAP6:** 2 Sets

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

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

Multidiluent 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Zur automatischen Verdünnung von Serumproben hoher Konzentration und für Fruchtwasser-Proben. Eine Flasche mit einem gebrauchsfertigen Konzentrat aus einer nicht-humanen Protein/ Puffer-Matrix versetzt mit Konservierungsstoffen. Bis 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder bis 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2M2Z: 25 ml **L2M2Z4:** 55 ml

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16×100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2M2Z: 3 Etiketten **L2M2Z4:** 5 Etiketten

Die Analyse von Fruchtwasser erfordert eine 1:100 Verdünnung der Probe (automatische Verdünnung mit dem Multi-Diluent 2).

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: (Einweg-) Reaktionsgefäße
L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm) für die Probenverdünnung
L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

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

Testdurchführung

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

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

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
4 Wochen

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

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

Siemens Healthcare Diagnostics empfiehlt die Verwendung von kommerziell verfügbaren Qualitätskontrollen in mindestens 2 Konzentrationen (niedrig und hoch). Der Systembetrieb gilt dann als zufriedenstellend, wenn die Analytwerte innerhalb des für das System zulässigen Kontrollbereichs oder des für die laborinternen Qualitätskontrollverfahren festgelegten zulässigen Bereichs liegen.

Referenzwerte

AFP Werte bei Patienten mit Hodenkrebs

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

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

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

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

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

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

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

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

AFP Werte für mütterliche Seren und Fruchtwasser

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

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

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

* Log-Linearregression

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

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

* Log-Linearregression

Grenzen der Methode

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

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

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

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

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

Umrechnungsfaktor:
IU/ml $\times$ 1,21 $\rightarrow$ ng/ml

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

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

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

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

Linearität: Serum- und Fruchtwasser-Proben wurden in ver-schiedenen Verdünnungsreihen getestet. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle “Linearity”.)

Wiederfindung: Die getesteten SerumProben waren mit drei AFP-Lösungen (286, 700 und 1324 IU/ml) 1:20 versetzt. Die getesteten Fruchtwasser-Proben waren mit drei AFP-Lösungen (10 000, 20 000 und 36 000 IU/ml) 1:20 versetzt. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle “Recovery”.)

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

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

Biotin: Proben, die Biotin in einer Konzentration von 3500 ng/ml enthalten, zeigen eine Veränderung der Ergebnisse von kleiner oder gleich 10 %.

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

Lipämie: Lipämie hat in Konzentrationen bis zu 3000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

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

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

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

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

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

95% Vertrauensbereich	Slope	Intercept
niedrigster Wert	0,89	0,94
höchster Wert	0,93	2,68

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

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

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

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

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

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

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

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

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

95% Vertrauensbereich	Slope	Intercept
niedrigster Wert	0,93	–0,50
höchster Wert	1,12	1,54

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

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

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

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

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

Klinische Sensitivität für mütterliche Seren, n = 9:

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

* Vertrauensbereich

Klinische Spezifität für mütterliche Seren

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

* Vertrauensbereich

Klinische Sensitivität für Fruchtwasser, n = 8:

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

* Vertrauensbereich

Klinische Spezifität für Fruchtwasser:

Gestations-woche	*n*	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	53	100%	100%	100%
16	50	98,0%	100%	100%
17	28	100%	100%	100%
18	20	100%	100%	100%
19	13	92,3%	100%	100%
20	10	100%	100%	100%
15–20	174	98,9%	100%	100%
95% CI* für alle Proben		95,9%–99,9%	97,9%–100%	97,9%–100%

* Vertrauensbereich

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

IMMULITE 2000 AFP

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

Números de Catálogo:
L2KAP2 (200 tests) **L2KAP6** (600 tests)

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

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

Resumen y Explicación del Test

La Alpha-fetoproteina (AFP) es una única cadena de glicoproteína con un peso molecular de aproximadamente 70 000 daltons. La AFP posee una considerable homología con la secuencia de la

albúmina, y es producida por el feto principalmente en células del saco vitelino, tracto gastrointestinal e hígado. La AFP es la proteína sérica más abundante en el feto, pero su concentración decrece rápidamente después del nacimiento[1,2,3]. La reaparición de elevadas concentraciones de AFP en el suero de adultos, ha sido observada no solo en el embarazo, sino también asociadas a diversas enfermedades tumorales benignas y malignas.

Cáncer testicular

Elevados niveles de AFP han sido obsevados, no solamente en pacientes con cáncer testicular no seminomatoso, sino también en pacientes con otras patologías tumorales como carcinoma hepatocelular, cáncer de ovario, cáncer gastrointestinal y cáncer de pulmón[8-15]. La AFP sérica está normalmente elevada en procesos inflamatorios hepáticos benignos, tales como hepatitis viral aguda, hepatitis crónica activa y cirrosis hepática. En el embarazo, ataxia telangiestasica y tirosinemia también pueden encontrarse concentraciones elevadas de AFP[8-15].

Los pacientes con seminomas, como única patología, no presentan altas concentraciones de AFP. Sin embargo, si han sido observadas elevadas concentraciones de AFP en pacientes con cáncer testicular seminomatoso acompañado de metástasis no seminomatosas[9,16,18,19]. Durante la quimioterapia, los pacientes con seminomas en estadíos avanzados y con disfunción hepática también presentan elevada la AFP en suero[20]. Por lo dicho, la interpretación de concentraciones elevadas de AFP en pacientes con seminomas, requiere un especial estudio clínico para la elección de la terapia mas adecuada[8,15,21].

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

La valoración a lo largo del tiempo de AFP en suero ha demostrado su gran eficacia, para la elección de la terapia en pacientes con tumores testiculares no seminomatosos[9,15,17,26,27]. Son particularmente de gran valor las determinaciones post-quirurgicas de AFP. La presencia de tumor residual después de la cirugía se pone de manifiesto, si después de descender, vuelven a subir los niveles de AFP[9,15,28,29]. Los cambios post-quirurgicos de AFP requieren una precisa interpretación, a fin de considerar el ritmo al que decrece su metabolismo[21,22,24,25]. Cuando es utilizada la AFP para el seguimiento de la terapia o la recurrencia de la enfermedad durante la quimioterapia, puede observarse como suelen caer rápidamente los niveles en el transcurso de la quimioterapia, permaneciendo normal su nivel si la masa tumoral es aun evidente[17,21]. En cuyo caso es recomendable continuar con plan terapeutico[21].

En pacientes en tratamiento o sometidos a cirugía, las determinaciones de AFP a lo largo del tiempo son de gran utilidad clínica en el seguimiento de la progresión o recurrencia del cáncer testicular no seminomatoso. Se ha demostrado, que frecuentemente los niveles de AFP se incrementan con la progresión de la enfermedad y caen en la remisión de la misma[9,17,18]. Elevados niveles de AFP han sido observados frecuentemente en tumores recurrentes antes de que la progresión de la enfermedad sea clínicamente evidente[9,18].

Defectos del tubo neural fetal abierto

La AFP es detectable no sólo en el suero fetal, sino también en el líquido amniótico y el suero materno. Existe un gradiente de concentración tal que cuando el nivel de la AFP en el suero fetal es de 2000 kIU/ml, el nivel de la AFP en el líquido amniótico (AFAFP) es de 20 kIU/ml y en el suero materno (MSAFP) de 0,02 kIU/ml. En el embarazo normal, la concentración de AFP en el suero fetal es máxima a las 14 semanas de gestación.[34] La concentración de AFAFP es máxima aproximadamente a las 12 semanas de gestación, mientras que la concentración de MSAFP es máxima aproximadamente alas 28–32 semanas de gestación[36]. La caída en la concentración de AFAFP refleja la caída en la concentración de AFP en el suero fetal, la cual resulta del incremento en el tamaño fetal y en el

volumen del líquido amniótico[34]. El aumento en los niveles de MSAFP y de AFAFP puede ocurrir más frecuentemente como consecuencia de un embarazo múltiple y de que la edad gestacional es incorrecta.

La medición de las concentraciones de AFP es clínicamente valiosa para detectar defectos del tubo neural fetal abierto y otras anomalías fetales[35]; embarazos asociados con defectos del tubo neural fetal abierto con niveles elevados de AFP. El exceso de AFP entra al líquido amniótico y, en menor grado, al suero materno, por trasudación a través de la superficie expuesta del feto o de los glomérulos dañados[35,37]. Estas condiciones se encuentran en los defectos del tubo neural abierto, incluyendo espina bífida abierta y anencefalía, onfalocele y nefrosis congétina[32,38]. Otras causas de las concentraciones elevadas de AFP, incluyendo ambas fuentes materna y fetal, son los abortos espontáneos inminentes, el sufrimiento o la muerte fetal, el oligohidramnios, la toxemia, la gastrosquisis, el síndrome de Meckel, el teratoma sacrococcígeo, el síndrome de Turner y los trastornos hepáticos y oncológicos maternos[35].

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

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

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

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

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

Principio del análisis

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

Ciclos de incubación: 2 × 30 minutos

Recogida de la muestra

Suero: Obtener sangre por venipuntura[31] en tubos simples y separar el suero de las células lo antes posible. Para que las muestras sean válidas, estas deben tomarse antes de la amniocentesis.

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

Las muestras hemolizadas podrían indicar una mala manipulación de la muestra antes de ser recibida por el laboratorio; en este caso, los resultados deben interpretarse con precaución.

Las muestras ictericas o ampliamente contaminadas pueden dar resultados erróneos.

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

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

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

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

Volumen requerido

Suero: 10 µl

Líquido amniótico: 10 µl de muestra de líquido amniótico prediluido

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

Conservación

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

Líquido amniótico: Las muestras de líquido amniótico deberán guardarse a –20°C. Las muestras deben fraccionarse si es necesario, para evitar el congelamiento y descongelamiento

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

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro.*

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.

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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las cañerías de cobre y plomo.

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

Agua: Usar agua destilada o desionizada.

Materiales Suministrados

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

Cartucho de bolas de AFP (L2AP12)
Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpo monoclonal murino anti-AFP. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad
L2KAP2: 1 cartucho
L2KAP6: 3 cartuchos

Vial de reactivo de AFP (L2APA2)
Con códigos de barras. 11,5 ml de una solución tampón de proteína en una matriz de suero no humano; y 11,5 ml de fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con anticuerpos policlonales de conejo anti-AFP en solución tampón. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KAP2: 1 vial **L2KAP6:** 3 viales

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

Ajustadores de AFP (L2APJ3, L2APJ4)
Dos viales (bajo y alto), de 2,0 ml cada uno, de AFP en una matriz de suero bovino. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KAP2: 1 juego **L2KAP6:** 2 juegos

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

Componentes del kit que se suministran por separado

Multidiluyente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Para la dilución automatizada de muestras con alto contenido de suero y muestras de líquido amniótico. Un vial con código de barras de un concentrado listo para su uso de una matriz proteica no humana con conservantes. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2M2Z: 25 ml **L2M2Z4:** 55 ml

Se suministran etiquetas con códigos de barras para usarse con este diluyente. Antes de uso, colocar la etiqueta con el código de barras en un tubo de ensayo de 16 x 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2M2Z: 3 etiquetas **L2M2Z4:** 5 etiquetas

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

L2SUBM: Substrato quimioluminiscente
L2PWSM: Lavado de sonda
L2KPM: Kit de limpieza de sonda
LRXT: Tubos de reacción (desechables)
L2ZT: 250 Tubos De Prueba Del Diluyente De la Muestra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Casquillos Del Tubo Del Diluyente De la

También necesarios
Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles

Ensayo

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

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:
4 semanas

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

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

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

Valores Esperados

Valores de AFP en pacientes con cáncer testicular

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

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

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

IU/ml:	< 5	5–15	15–100	> 100
Hombres				
Hombres sanos *(119)*	118	1	—	—
Cáncer testicular seminomatoso *(6)*	6	—	—	—
Cáncer testicular no seminomatoso *(60)*	14	8	15	23
Cáncer de hígado *(10)*	3	—	2	5
Otras enfermedades malignas *(40)*	36	1	—	3
Cirrosis *(4)*	3	1	—	—
Hepatitis *(24)*	19	4	1	—
Otras enfermedades no malignas *(6)*	5	—	—	1

IU/ml:	< 5	5–15	15–100	> 100
Mujeres				
Mujeres sanas *(29)*				
	29	—	—	—
Enfermedades malignas *(20)*				
	18	—	1	1
Enfermedades no malignas *(16)*				
	15	—	1	—

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

Se puede esperar que los pacientes con cáncer testicular no seminomatoso tengan una distribución de valores de AFP, dentro y por arriba del rango de referencia para los hombres adultos aparentemente sanos. En su forma pura, los seminomas no presentan niveles elevados de AFP en suero. Sin embargo, se han observado niveles elevados de AFP en pacientes diagnosticados con seminomas acompañados por metástasis de cáncer testicular no seminomatoso[8].

Un aumento significativo en los niveles de AFP en los pacientes que se consideran libres de tumores metastásicos pueden indicar el desarrollo de metástasis. Niveles elevados después de la cirugía pueden indicar que la remoción del tumor es incompleta o la presencia de metástasis.

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

Valores de AFP en suero materno y líquido amniótico

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

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

Semana gesta-cional	No. de muestras	Medianas IU/ml*	Múltiplos de las medianas obtenidas por regresión (IU/ml) 2,0	2,5	3,0
15	370	24,9	49,8	62,3	74,7
16	605	28,5	57,0	71,3	85,5
17	569	32,6	65,2	81,5	97,8
18	431	37,2	74,4	93,0	111,6
19	221	42,5	85,0	106,3	127,5
20	91	48,6	97,2	121,5	145,8

*Por regresión

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

Semana gesta-cional	No. de muestras	Medianas kIU/ml*	Múltiplos de las medianas obtenidas por regresión (kIU/ml) 2,0	2,5	3,0
15	76	13,0	26,0	32,5	39,0
16	89	10,7	21,4	26,8	32,1
17	53	8,73	17,5	21,8	26,2
18	54	7,14	14,3	17,9	21,4
19	46	5,84	11,7	14,6	17,5
20	23	4,78	9,56	12,0	14,3

* Por regresión

Limitaciones

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

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

Análisis prenatal: La evaluación confiable de AFP para el análisis prenatal requiere la determinación precisa de la edad gestacional. Una subestimación de la edad gestacional puede producir una determinación positiva falsa, mientras que una sobreestimación puede resultar en una interpretación negativa falsa. Cuando no hay certeza sobre la edad gestacional se indica la confirmación con ecografía.

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

Características Analíticas

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

Factor de Conversión:
IU/ml $\times$ 1,21 $\rightarrow$ ng/ml

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

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

Efecto de gancho a altas dosis: Ninguno hasta 534 000 IU/ml

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

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

Recuperación: Se analizaron muestras de suero inoculadas 1 en 20 con tres soluciones de AFP (286, 700 y 1324 IU/ml). También se analizaron muestras amnióticas inoculadas 1 en 20 con tres muestras de alta concentración de líquido amniótico (10 000, 20 000 y

36 000 IU/ml). (Ver la tabla de “Recovery” para resultados representativos.)

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

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

Biotina: Las muestras que contienen biotina en una concentración de 3500 ng/ml han demostrado un cambio igual o inferior al 10% en los resultados.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

También se comparó el ensayo con el IMMULITE AFP en muestras de líquido amniótico, en un rango de aproximadamente 3 a 20 kIU/ml*. (Ver el gráfico.) Por regresión lineal:

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

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

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

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

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

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

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

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

Sensibilidad clínica para el suero materno, n = 9:

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

Especificidad clínica para el suero materno:

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

Sensibilidad clínica para el líquido amniótico, n = 8:

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

Especificidad clínica para el líquido amniótico:

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

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

IMMULITE 2000 AFP

Domaine d'utilisation : diagnostic *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000 — pour la mesure quantitative d'alpha-fœtoprotéine dans un des deux contextes suivants : (a) les mesures en série du sérum humain pour contribuer à la prise en charge des patients atteints d'un cancer testiculaire de stade 1 ou (b) les mesures du sérum maternel et du liquide amniotique entre la 15ème et la 20ème semaine de gestation

(utilisé conjointement avec une échographie ou une amniographie) pour contribuer au dépistage d'anomalies du tube neural chez le fœtus.

Référence catalogue :
L2KAP2 (200 tests) **L2KAP6** (600 tests)

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

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

Introduction

L'alpha-foetoprotéine (AFP) est une glycoprotéine formée d'une seule chaîne de masse moléculaire de 70 000 Daltons. Certaines séquences de l'AFP sont homologues à celles de l'albumine. L'AFP est produite par le fœtus principalement dans les cellules du sac vitellin, du tractus gastro-intestinal et du foie. L'AFP est la protéine sérique majeure chez le fœtus, sa concentration diminuant rapidement vers la naissance.[1,2,3] La réapparition de concentrations élevées d'AFP dans le sérum d'adulte est observée non seulement pendant la grossesse mais également lors de certaines pathologies bénignes ou malignes.

Cancer testiculaire

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

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

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

Des dosages en série d'AFP sérique permettent d'évaluer l'efficacité des traitements chez des patients atteints de tumeurs testiculaires non séminomateuses.[9,15,17,26,27] Dans les diagnostics postopératoires, l'existence d'une tumeur résiduelle est fortement suggérée si le taux d'AFP ne retrouve pas sa valeur normale après l'intervention.[9,15,28,29] L'interprétation précise des variations postopératoires d'AFP doit tenir compte de son taux de catabolisme.[21,22,24,25] Dans le cas où l'AFP est utilisée pour suivre l'efficacité d'un traitement ou surveiller la réapparition de la maladie lors d'une chimiothérapie, il est important de se rappeler que les taux d'AFP chutent souvent rapidement pendant la chimiothérapie jusqu'à des valeurs normales alors que les tumeurs sont toujours visibles.[17,21] Dans ce contexte, un arrêt de la thérapie planifiée a été fortement recommandée.[21]

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

Défaut de fermeture du tube neural chez le fœtus

Outre le sérum fœtal, l'alpha-fœtoprotéine est présente dans le liquide amniotique et le sérum maternel. Un gradient de concentration existe lorsque le taux d'alpha-fœtoprotéine dans le sérum fœtal est de 2000 kUI/ml, le taux dans le liquide amniotique est de 20 kUI/ml et le taux dans le sérum maternel est de 0,02 kUI/ml. Lors d'une grossesse normale, la concentration d'alpha-fœtoprotéine dans le sérum fœtal atteint son taux maximal à la 14ème semaine de gestation.[34] La concentration dans le liquide amniotique atteint son niveau maximal aux alentours de la 12ème semaine et la concentration dans le sérum maternel entre la 28ème et la 32ème semaine de gestation.[36] La baisse de concentration d'alpha-fœtoprotéine dans le liquide amniotique reflète la baisse de concentration dans le sérum fœtal qui est due à l'augmentation de la taille du fœtus et du volume du liquide.[34] Des taux élevés d'alpha-fœtoprotéine dans le sérum maternel et le liquide amniotique sont souvent observés en cas de grossesse multiple et d'âge de gestation incorrect.

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

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

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

Des taux élevés d'alpha-fœtoprotéine dans le sérum maternel ne permettent pas

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

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

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

Principe du test

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

Cycles d'incubation : 2 × 30 minutes

Recueil des échantillons

Sérum : prélevez du sang par ponction veineuse[31] dans des tubes lisses et séparez le sérum des cellules dès que possible. Pour obtenir des spécimens valables, ils doivent être prélevés avant l'amniocentèse.

Il est recommandé de clarifier les échantillons hyperlipémiques par ultracentrifugation.

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

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

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

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

Liquide amniotique : prélevez le liquide amniotique par amniocentèse dans des tubes lisses. Les échantillons doivent être obtenus par amniocentèse transabdominale aseptique par un obstétricien expérimenté durant le deuxième trimestre de la grossesse chez les femmes dont l'âge de gestation a été confirmé. Centrifugez le spécimen et conservez une partie du surnageant clair. Examinez le surnageant et le sédiment pour y détecter la présence éventuelle de sang ou d'hémoglobine, car une contamination hémoglobinique, même à l'état de trace, de la substance fœtale entraînera une augmentation de la concentration apparente d'alpha-fœtoprotéine et rendra le spécimen impropre à l'analyse. L'origine de la substance fœtale doit être déterminée par un test d'hémoglobine fœtale. En cas de contamination fœtale et de concentration élevée d'alpha-fœtoprotéine, un spécimen

additionnel doit être prélevé pour évaluation après 7 à 10 jours. La contamination du liquide amniotique par le sérum maternel n'affectera pas l'exactitude des taux d'alpha-fœtoprotéine pour autant que le degré de cette contamination soit insuffisant pour diluer l'échantillon. Ci-après dans la présente notice explicative, le terme *liquide amniotique* désigne le surnageant clair obtenu par centrifugation du liquide amniotique.

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

Volume nécessaire

Sérum : 10 µl

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

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

Conditions de conservation

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

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

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

ATTENTION : Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.

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

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

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

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

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

Matériel fourni

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

Cartouche de billes AFP (L2AP12)
Avec code-barres. 200 billes revêtues d'un anticorps monoclonal murin anti-AFP. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KAP2 : 1 cartouche
L2KAP6 : 3 cartouches

Cartouche à réactif AFP (L2APA2)
Avec code-barres. 11,5 ml d'un tampon de protéines/matrice de sérum non humain ; et 11,5 ml d'un réactif composé d'un anticorps polyclonal de lapin anti-AFP marqué à la phosphatase alcaline (provenant des intestins de veau) dans un tampon. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KAP2 : 1 cartouche
L2KAP6 : 3 cartouches

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

Ajusteurs AFP (L2APJ3, L2APJ4)
2 flacons d'ajusteurs « haut » et « bas » de 2 ml chacun contenant de l'AFP dans une matrice de sérum bovin. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KAP2 : 1 jeu **L2KAP6 :** 2 jeux

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

Composants du coffret fournis séparément

Multi-diluant 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Pour la dilution embarquée des échantillons sériques élevés et des échantillons de liquide amniotique. Un flacon contenant une matrice concentrée de tampon / protéines non-humaines avec conservateur (prêt à l'emploi). Stable à 2–8°C pendant 30 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2M2Z: 25 ml **L2M2Z4:** 55 ml

Les étiquttes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16x100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2M2Z : 3 étiquettes
L2M2Z4 : 5 étiquettes

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

L2SUBM : Substrat chimiluminescent
L2PWSM : Solution de lavage
L2KPM : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement
LRXT : Godets réactionnels (jetables)
L2ZT : 250 Tubes À essai De Diluant échantillon (16 × 100 mm)
L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

Egalement requis
Eau distillée ou désionisée ; tubes en verre ; contrôles

Protocole de dosage

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

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

Intervalle d'ajustement recommandé :
4 semaines

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

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

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

Valeurs de référence

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

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

Dans une étude impliquant deux sites cliniques, 119 échantillons de sérum d'hommes apparemment en bonne santé (médiane : 61 ; centré à 95 % : 27 à 79 ans) ont été dosés avec le test AFP IMMULITE. Les résultats s'échelonnaient entre 0,5 et 5,5 UI/ml, avec une médiane à 1,6 UI/ml et un 99ème percentile à 5 UI/ml.

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

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

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

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

Une augmentation significative des taux de l'AFP chez des patients apparemment sans métastases peut indiquer le développement de celles-ci. Des taux postopératoires élevés peuvent révéler une ablation incomplète de la tumeur ou la présence de métastases.

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

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

En raison des divergences possibles entre les essais effectués dans des laboratoires différents, il est recommandé qu'un centre d'essais particulier définisse sa propre échelle de valeurs médianes d'alpha-fœtoprotéine pour la période comprise entre la 15ème et la 20ème semaine de la gestation, mesurées dans la population à

tester. Les valeurs d'inclusion comprennent habituellement des multiples des médianes (MoM) de 2,0 ou 2,5 pour les essais du sérum maternel et du liquide amniotique. Chaque résultat des essais d'alpha-fœtoprotéine peut alors être exprimé en un multiple de la médiane constante de la population. Ce résultat est obtenu en divisant la valeur d'alpha-fœtoprotéine par la valeur médiane pour la semaine de gestation correspondante. Les semaines de gestation sont définies comme semaines de gestation complètes ; par exemple, 16 semaines et 6 jours seront considérés comme la 16ème semaine. Il est recommandé que les valeurs médianes et MoM définies pour chaque semaine de gestation soient fondées sur au moins 100 sérums maternels et 50 liquides amniotiques issus de grossesses uniques non affectées dont l'âge de gestation a été confirmé.

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

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

*Par régression

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

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

*Par régression

Limites

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

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

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

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec

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

Performances du test

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

Facteur de conversion :
UI/ml $\times$ 1,21 $\rightarrow$ ng/ml

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

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

Accoutumance aux doses élevées : Aucun jusqu'à 534 000 UI/ml

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

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

Test de récupération: Des échantillons sériques dilués au 1:20 avec trois solutions d'alpha-fœtoprotéine (286, 700 et 1324 UI/ml) ont été dosés. Des échantillons amniotiques dilués au 1:20 avec trois échantillons amniotiques élevés (10 000, 20 000 et 36 000 UI/ml) ont également été dosés. (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

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

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

Biotine : Les échantillons contenant de la biotine à une concentration de 3500 ng/ml présentent un changement de résultats inférieur ou égal à 10 %.

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

Lipémie : La présence de lipémie ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 3000 mg/dl.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Le dosage a également été comparé à IMMULITE AFP sur des échantillons de liquide amniotique, dans la gamme d'environ 3 à 20 kUI/ml.* (Voir le graphique.) Par régression linéaire:

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

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

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

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

Le dosage a également été comparé à IMMULITE AFP sur des échantillons de sérum maternel, dans la gamme d'environ 10 à 120 UI/ml. Par régression linéaire :

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

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

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

Sensibilité clinique pour le sérum maternel, n = 9 :

Semaine de gestation	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15–20	100%	77,8%	66,7%
95% de l'IC pour tous les échantillons	66,4%–100%	40,0%–97,2%	29,9%–92,5%

Spécificité clinique pour le sérum maternel :

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

Sensibilité clinique pour le liquide amniotique, n = 8 :

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

Spécificité clinique pour le liquide amniotique :

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

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

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

Italiano

IMMULITE 2000 AFP

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

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

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

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

Riassunto e Spiegazione del Test

L'Alfafetoproteina (AFP) è una glicoproteina a catena singola con una massa molecolare di circa 70 000 dalton. L'AFP presenta un'affinità alquanto accentuata nella sequenza con l'albumina, ed è prodotta dal feto principalmente nelle cellule del sacco vitellino, nel tratto gastrointestinale e nel fegato. L'AFP è una tra le maggiori proteine sieriche nel feto, ma la sua concentrazione decresce rapidamente in prossimità della nascita.[1,2,3] E' stata osservata la comparsa di concentrazioni elevate di AFP nel siero di persone adulte non solo durante la gravidanza, ma anche in concomitanza con diverse malattie benigne e maligne.

Cancro dei Testicoli

Livelli elevati di AFP sono stati riscontrati non solo in pazienti con cancro testicolare non seminomatoso, ma anche in pazienti con altre patologie maligne quali carcinoma epatocellulare, carcinoma ovarico, gastroentestinale e polmonare.[8-15] L'AFP nel siero si presenta frequentemente elevata anche in condizioni epatiche benigne quali epatite

virale acuta, epatite cronica attiva e cirrosi. La gravidanza, l'atassia telangiectasica e la tireosinemia ereditaria presentano in maniera analoga concentrazioni elevate di AFP.[8-15]

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

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

E' stato dimostrato che misurazioni seriali di AFP riflettono l'efficacia dei trattamenti terapeutici in pazienti con tumori testicolari non seminomatosi.[9,15,17,26,27] Le determinazioni post chirurgiche dell'AFP hanno un'importanza rilevante. Si presume la presenza di tumori residui se le concentrazioni post-operatorie di AFP non ritornano alla normalità dopo l'intervento.[9,15,28,29] Nell'interpretazione delle concentrazioni post-operatorie e' importante valutare la velocità della diminuzione dei valori.[21,22,24,25] Quando viene utilizzata l'AFP per monitorare la terapia o per diagnosticare un'eventuale recidiva, occorre notare che spesso i livelli decadono rapidamente durante la chemioterapia, fino a raggiungere livelli normali, mentre le masse tumorali sono ancora evidenti.[17,21] In tali circostanze, si consiglia il completamento della terapia pianificata.[21]

Dopo terapia o intervento chirurgico in pazienti con carcinoma testicolare nonseminomatoso, misurazioni seriali di AFP si sono dimostrate clinicamente utili per diagnosticare eventuali recidive o progressioni della malattia. E' stato riscontrato che i livelli di AFP si innalzano frequentemente durante la progressione della malattia e si abbassano durante la remissione.[9,17,18] Livelli elevati di AFP sono stati spesso osservati in associazione alla recidiva tumorale prima ancora che la malattia fosse clinicamente evidente.[9,18]

Difetti del Tubo Neurale Aperto nel Feto

L'AFP è rilevabile non solo nel siero fetale, ma anche nel liquido amniotico e nel siero materno. Esiste un gradiente di concentrazione tale per cui quando il livello di AFP nel siero fetale è 2000 kIU/mL, il livello di AFP nel liquido amniotico (AFAFP) è 20 kIU/mL e l'AFP nel siero materno (MSAFP) è 0,02 kIU/mL. In gravidanze normali la concentrazione di AFP nel siero fetale raggiunge un picco a 14 settimane di gestazione.[34] La concentrazione di AFAFP raggiunge un picco intorno alla 12° settimana e la MSAFP raggiunge un picco intorno alla 28°–32° settimana di gravidanza.[36] La caduta delle concentrazioni di AFAFP riflette la caduta delle concentrazioni di AFP nel siero fetale quale conseguenza delle accresciute dimensioni fetali e di un aumento nel volume del liquido.[34] Livelli elevati di MSAFP e di AFAFP possono verificarsi spesso in seguito a gravidanze multiple e ad età gestazionale non corretta.

La misurazione delle concentrazioni di AFP è clinicamente valida nello screening dei Difetti del Tubo Neurale Aperto e di altre anomalie fetali;[35] gravidanze associate a Difetti del Tubo Neurale Aperto presentano livelli elevati di AFP. L'AFP in eccesso fluisce nel liquido amniotico ed in maniera minore nel siero materno attraverso traspirazione della superficie del feto esposta o attraverso i glomeruli danneggiati.[35,37] Queste condizioni vengono riscontrate nei Difetti del Tubo Neurale Aperto inclusa la Spina Bifida e l'Anencefalia, l'Omfalocele e la Nefrosi Congenita.[32,38] Altre cause di concentrazioni elevate di AFP incluse sorgenti materne e fetali sono cause di aborto spontaneo, problemi fetali o morte del feto, Oligoidramnios, Tossiemia, Gastroschisi, Sindrome di Meckel, Teratoma Sacrococcigeo, Sindrome di Turner, e disturbi epatici ed oncologici della madre.[35]

Sono stati pubblicati i protocolli consigliati per lo screening dei Difetti del Tubo

Neurale Aperto.[33,35] I livelli di cutoff nel siero materno e nel fluido amniotico possono essere scelti per ottimizzare le necessità della popolazione sottoposta a test e basati sulla prevalenza variabile dei dei Difetti del Tubo Neurale Aperto. I cutoff usano comunemente i multipli della mediana di 0,2 o 2,5 per il test dell'MSAFP e dell'AFAFP. Il momento ottimale per l'effettuazione dello screening dell'MSAFP è tra la 16° e la 18° settimana di gravidanza, benché lo screening continui ad essere efficace prima o dopo questo periodo. Concentrazioni elevate di AFP possono essere soggette a prelievi ed analisi ripetuti per escludere innalzamenti momentanei del livello.

Più comunemente, viene utilizzata l'ecografia per determinare gravidanze multiple e confermare l'età gestazionale. L'ecografia può anche identificare i segni di Difetti del Tubo Neurale Aperto, in modo particolare l'Anencefalia, che costituisce una lesione vasta e facile da identificare. Se la correzione dell'età gestazionale o di gravidanze multiple non corrisponde ad una concentrazione di AFP entro il range di normalità, allora si consiglia l'effettuazione di un'ecografia e/o di un prelievo di liquido amniotico. La maggior efficacia diagnostica può essere ottenuta combinando l'analisi biochimica del liquido amniotico e l'ecografia diagnostica in casi di screening MSAFP positivo.[35]

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

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

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

Principio del Dosaggio

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

Cicli d'incubazione: 2 × 30 minuti

Prelievo dei Campioni

Siero: Effettuare il prelievo di sangue[31] in provette semplici e separare il siero dalle cellule prima possibile. I campioni devono essere ottenuti prima dell'amniocentesi per ottenere un campione idoneo al test.

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

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

I campioni itterici o grossolamente contaminati possono produrre risultati errati.

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

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

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

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

Volume Richiesto

Siero: 10 µL di siero

Liquido Amniotico: 10 µL di un campione prediluito di liquido amniotico

Fattore di Diluizione per il Liquido Amniotico: 100

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

Conservazione

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

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

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale portatore e trasmettitore di agenti patogeni.

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

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

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

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

Acqua: Utilizzare solo acqua distillata o deionizzata.

Materiali Forniti

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

Contenitore di Sferette AFP (L2AP12)
Con codice a barre. 200 sferette coattate con un anticorpo monoclonale murino anti-AFP. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KAP2: 1 confezione
L2KAP6: 3 confezioni

Porta Reagente AFP (L2APA2)
Con codice a barre. 11,5 mL di un tampone proteico in una matrice di siero non umano; e 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con un anticorpo policlonale di coniglio anti-AFP, in un tampone. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KAP2: 1 Porta Reagente
L2KAP6: 3 Porta Reagenti

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

Aggiustatori AFP (L2APJ3, L2APJ4)
Due fiale (basso ed alto), ciascuno con 2,0 mL di AFP in una matrice di siero bovino. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, e per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KAP2: 1 set **L2KAP6:** 2 set

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

Componenti del Kit Forniti Separatamente

Multidiluente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Per la diluizione interna di campioni elevati di siero e campioni di liquido amniotico. Un flacone di tampone proteico non umano concentrato (pronto all'uso) con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, e per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2M2Z: 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

Vengono fornite le etichette da utilizzarsi con il Diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta su una provetta 16 × 100 mm cosicchè i codici a barre possano essere letti dal lettore interno.
L2M2Z: 3 etichette **L2M2Z4:** 5 etichette

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

L2SUBM: Substrato Chemiluminescente
L2PWSM: Tampone di Lavaggio dell'Ago
L2KPM: Kit di Pulizia dell'Ago
LRXT: Tubi di Reazione (monouso)
L2ZT: 250 Provette (16 × 100 mm) per Diluente del Campione
L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluente del Campione

Materiali richiesti
Acqua distillata o deionizzata; provette di vetro; controlli

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato:
4 settimane

Campioni per il Controllo di Qualità:
Per la frequenza del controllo di qualità seguire le normative in vigore o i requisiti di accreditamento.

Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (Alto e Basso) di AFP.

Siemens Healthcare Diagnostics consiglia l'utilizzo di materiali di controllo della qualità disponibili in commercio con almeno 2 livelli (bassi e alti). Un livello soddisfacente di prestazioni si raggiunge quando i valori dell'analita ottenuti rientrano nei range di accettabilità del

Controllo per il sistema o nei range stabiliti all'interno del laboratorio attraverso un programma appropriato di valutazione del controllo di qualità.

Valori Attesi

Valori di AFP in pazienti con Cancro dei Testicoli

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

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

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

IU/mL:	< 5	5–15	15–100	> 100
Uomini				
Uomini sani *(119)*	118	1	—	—
Cancro Seminomatoso dei Testicoli *(6)*	6	—	—	—
Cancro non Seminomatoso dei Testicoli *(60)*	14	8	15	23
Cancro del Fegato *(10)*	3	—	2	5
Altre Patologie Maligne *(40)*	36	1	—	3
Cirrosi *(4)*	3	1	—	—
Epatite *(24)*	19	4	1	—
Altre Patologie Non Maligne *(6)*	5	—	—	1
Donne				
Donne sane *(29)*	29	—	—	—
Patologie Maligne *(20)*	18	—	1	1
Patologie Non Maligne *(16)*	15	—	1	—

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

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

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

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

Valori di AFP nel Siero Materno e nel Liquido Amniotico

A causa di variazioni potenziali nei test effettuati da laboratori differenti, si consiglia ad ogni laboratorio di determinare il proprio set di valori mediani per le settimane gestazionali dalla 15° alla 20° testati nella popolazione su cui effettuare lo screening. I valori di cutoff comunemente utilizzano multipli delle mediane (MoM) di 2,0 o 2,5 per il dosaggio del siero materno e del liquido

amniotico. Ogni risultato dei test sull'AFP deve essere espresso come multiplo dei valori medi della popolazione sana. Ciò si ottiene dividendo il valore di AFP per il valore medio in base alle settimane gestazionali. Con settimane gestazionali si intendono settimane complete; ad es.: 16 settimane, 6 giorni verrebbero considerati parte della 16 settimana. Si consiglia che i valori mediani MoM determinati per ogni settimana gestazionale si basino su almeno 100 sieri materni e 50 campioni di fluido amniotico da gravidanze singole di feti sani con età gestazionale confermata.

Di seguito vengono forniti i valori mediani per i campioni di *siero materno* calcolati attraverso una regressione del peso linear-log da dati raccolti da gravidanze di feti singoli sani in 3 centri clinici negli Stati Uniti.

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

*Valori Regressi

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

			Multipli delle Mediane Regresse (kIU/mL)		
Sett. Di Gestazione	No. di campioni	Mediane kIU/mL*	2,0	2,5	3,0
15	76	13,0	26,0	32,5	39,0
16	89	10,7	21,4	26,8	32,1
17	53	8,73	17,5	21,8	26,2
18	54	7,14	14,3	17,9	21,4
19	46	5,84	11,7	14,6	17,5
20	23	4,78	9,56	12,0	14,3

*Valori Regressi

Limiti

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

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

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

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi *in vitro*. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34: 27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

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

Fattore di Conversione:
IU/mL $\times$ 1,21 $\rightarrow$ ng/mL

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

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

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

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

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

Recupero: Sono stati dosati 1-in-20 campioni di siero cui sono state aggiunte 3 soluzioni di AFP (286, 700 e 1324 IU/mL) Sono stati dosati 1-in-20 campioni elevati di liquido amniotico cui sono state aggiunte 3 soluzioni di AFP (10 000, 20 000 e 36 000 IU/mL). (Vedere Tabella "Recovery" per i dati rappresentativi.)

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

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

Biotina: I campioni che contengono biotina a una concentrazione di 3500 ng/mL dimostrano una variazione nei risultati inferiore o pari al 10%.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Sensibilità Clinica per Campioni di Siero Materno
n = 9:

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

Specificità Clinica per Campioni di Siero Materno:

Sett. di Gestazione	*n*	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	276	94,2%	97,5%	98,6%
16	304	96,1%	99,0%	99,7%
17	272	97,1%	99,3%	99,6%
18	287	95,8%	98,6%	99,3%
19	152	93,4%	98,0%	99,3%
20	41	95,1%	100%	100%
15–20	1332	95,5%	98,6%	99,3%
95% CI per tutti i Campioni		94,2%–96,5%	97,8%–99,1%	98,7%–99,7%

Sensibilità Clinica per Campioni di Liquido Amniotico
n = 8:

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

Specificità Clinica per Campioni di Liquido Amniotico:

Sett. di Gestazione	*n*	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	53	100%	100%	100%
16	50	98,0%	100%	100%
17	28	100%	100%	100%
18	20	100%	100%	100%
19	13	92,3%	100%	100%
20	10	100%	100%	100%
15–20	174	98,9%	100%	100%
95% per tutti i Campioni		95,9%–99,9%	97,9%–100%	97,9%–100%

Assistenza Tecnica

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

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

IMMULITE 2000 AFP

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

Números de catálogo:
L2KAP2 (200 testes)
L2KAP6 (600 testes)

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

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

Sumário e explicação do teste

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

Cancro dos testículos

Valores elevados de AFP têm sido referidos não só em pacientes com cancro testicular diferente de seminoma, mas também em pacientes com doenças malignas como carcinoma hepatocelular, cancro gastrointestinal e cancro pulmunar[8-15]. A concentração de AFP aumenta frequentemente em condições hepáticas benignas tais como hepatites virais agudas, hepatites crónicas activas e cirroses. Condições de gravidez, ataxia telangiectasia e tirosinémia também têm

sido apresentas com elevadas concentrações de AFP[8-15].

Os seminomas, na forma pura, não se apresentam com concentrações elevadas de AFP. No entanto, têm-se observado elevadas concentrações de AFP no soro de pacientes masculinos diagnosticados com seminoma e metástases com origem diferente de seminoma[9,16,18,19]. Durante a quimioterapia, pacientes com seminoma avançado e disfunção hepática também apresentam valores elevados de AFP no soro[20]. A interpretação de valores elevados de AFP em pacientes com seminoma requer consideração especial e deveria ajudar o médico na selecção da terapêutica apropriada[8,15,21].

Doseamentos periódicos de AFP têm demonstrado eficácia no regime terapêutico de pacientes com tumores testiculares diferentes de seminoma[9,15,17,26,27]. Doseamentos de AFP após cirurgia são particularmente valiosos. A presença de tumor residual é fortemente sugerida se as concentrações de AFP após cirurgia não voltarem ao normal[9,15,28,29]. Uma interpretação exacta de alterações na concentração de AFP pós-operatória requer considerações sobre o decréscimo do metabolismo desta glicoproteína[21,22,24,25]. Quando se utiliza AFP para monitorização terapêutica ou recorrência da doença durante quimioterapia, deve-se ter em conta que os níveis caem rapidamente durante a quimioterapia, alcançando valores normais enquanto as massas tumorais continuam evidentes[17,21]. Em tais circunstâncias, tem sido recomendado a continuação da terapêutica[21].

Após terapêutica ou cirurgia, os doseamentos periódicos de AFP têm demonstrado utilidade clínica quando se pretende monitorizar a progressão ou recorrência de doença em pacientes com cancro testicular diferente de seminoma. Tem sido apresentado em várias comunicações que os níveis de AFP aumentam frequentemente durante a progressão da doença e decaem durante a remissão desta[9,17,18]. Valores elevados de AFP têm sido frequentemente associados a recorrências tumorais antes da doença progressiva ser clinicamente evidente[9,18].

Defeitos na abertura do tubo neural do feto

A AFP é detectável não apenas no soro do feto, mas também no liquído amniótico e soro materno. Existe uma concentração niveladora tal que quando o nível de AFP no soro do feto é de 2000 kIU/mL, o nível de AFP (AFAFP) no liquído amniótico é de 20 kIU/mL, e a AFP (MSAFP) no soro materno é de 0,02 kIU/mL. Numa gravidez normal, a concentração de AFP no soro do feto atinge o nível máximo na 14ª semana de gestação[34]. A concentração de AFAFP atinge o nível máximo cerca das 12 semanas e o MSAFP atinge o nível máximo entre as 28 e as 32 semanas de gestação.[36] A queda na concentração do AFAFP reflecte a queda na concentração de AFP no soro do feto a qual resulta do aumento do tamanho do feto e volume do liquído.[34] Níveis elevados de MSAFP e AFAFP podem ocorrer com mais frequência devido a gravidezes múltiplas e devido a uma idade de gestação incorrecta.

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

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

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

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

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

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

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

Princípio do procedimento

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

Ciclos de incubação: 2 × 30 minutos

Colheita

Soro: Recolha sangue por flebectomia[31] para tubos de ensaio e separe o soro das células assim que possível. Os espécimens devem ser obtidos antes da amniocentese para obter um espécimen válido.

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

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

Amostras ictéricas ou totalmente contaminadas podem causar resultados errados.

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

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

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

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

Volume de amostra

Soro: 10 µL

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

Factor de Diluição do Líquido Amniótico: 100
Todas as amostras de líquido amniótico devem ser primeiro diluídas 1-em-101 utilizando Multi-Diluente 2 antes do ensaio. Seleccione 100 na janela do Factor de Diluição.

Estabilidade

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

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

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.

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. As etiquetas no interior das caixas são necessárias para o ensaio.

Embalagem de pérolas de AFP (L2AP12)
Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com anticorpo monoclonal de rato anti-AFP. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KAP2: 1 embalagem
L2KAP6: 3 embalagens

Embalagem de reagentes de AFP (L2APA2)
Com código de barras. Contém 11,5 mL de proteína em tampão/ matriz de soro não humano; e 11,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugado com policlonal de coelho anti-AFP, em tampão. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KAP2: 1 embalagem
L2KAP6: 3 embalagens

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

Ajustes AFP (L2APJ3, L2APJ4)
Contém dois frascos (nível alto e baixo), 2,0 ml cada, de AFP em matriz de soro bovino. Estável a 2–8°C por 30 dias após abertura, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KAP2: 1 conjunto
L2KAP6: 2 conjuntos

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

Componentes do kit fornecidos separadamente

Multidiluente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Para a diluição on-board das amostras com elevado teor de soro e das amostras de líquido amniótico. Um frasco, de concentrado (pronto a usar) constituido por uma matriz baseada em proteína não humana, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2M2Z: 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2M2Z: 3 etiquetas **L2M2Z4:** 5 etiquetas

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

L2SUBM: Substrato quiomioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Kit de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)
L2ZT: 250 Tubos de diluente da amostra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

Também necessário
Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos

Procedimento do doseamento

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

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

Intervalo entre ajustes aconselhável:
4 semanas

Amostras de controlo de qualidade:
Observe os regulamentos governamentais ou os requisitos de acreditação quanto à frequência do controlo de qualidade.

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

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

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

Valores de Referência

Níveis de AFP em pacientes com cancro dos testículos

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

Num estudo realizado em duas clínicas, 119 amostras de soro de homens aparentemente saudáveis (idade mediana: 61; percentil 95%: 27 a 79 anos) foram processadas pelo doseamento com IMMULITE AFP. Os resultados alcançaram de 0,5 a 5,5 IU/mL, com uma mediana de 1,6 IU/mL e um percentil de 99% de 5 IU/mL.

O estudo também incluiu homens com câncer testicular; pacientes com outras condições malignas (do fígado, bexiga, rim, pâncreas, pulmão, próstata e cólon), pacientes com condições não malignas (como cirrose, hepatite B e C, colite ulcerativa, enfisema, pólipos no cólon e reto); e algumas mulheres aparentemente saudáveis. A distribuição dos resultados de IMMULITE AFP está tabulada abaixo (com o número total para cada grupo entre parênteses).

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

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

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

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

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

Níveis de AFP no soro materno e no líquido amniótico

Devido à variação potencial nas análises efectuadas em diferentes laboratórios, recomenda-se que um centro de análises específico determine o seu próprio grupo de níveis médios de AFP da 15ª à 20ª semana de gestação, medido na

população a ser rastreada. Os valores limite geralmente utilizam múltiplos dos médios (MoM) de 2,0 ou 2,5 para o soro materno e análises ao líquido amniótico. Cada resultado das análises AFP pode depois ser expresso como um múltiplo do valor médio da população não afectada. Este valor é obtido dividindo o valor do AFP pelo valor médio para a semana gestacional que lhe corresponde. As semanas gestacionais são definidas como semanas gestacionais completas, i.e, 16 semanas, 6 dias seriam considerados a 16ª semana. Tem-se recomendado que os valores médios e os valores MoM determinados para cada semana gestacional sejam baseados em pelo menos 100 soros maternos e 50 líquidos amnióticos de gravidezes simples não afectadas com idade gestacional confirmada.

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

Semana gesta-cional	N. de Espéci-mens	Médias IU/mL*	Múltiplos de médias que regrediram (IU/mL)		
			2,0	2,5	3,0
15	370	24,9	49,8	62,3	74,7
16	605	28,5	57,0	71,3	85,5
17	569	32,6	65,2	81,5	97,8
18	431	37,2	74,4	93,0	111,6
19	221	42,5	85,0	106,3	127,5
20	91	48,6	97,2	121,5	145,8

*Regredidos

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

Semana gesta-cional	N. de Espéci-mens	Médias kIU/mL*	Múltiplos de médias que regrediram (kIU/mL)		
			2,0	2,5	3,0
15	76	13,0	26,0	32,5	39,0
16	89	10,7	21,4	26,8	32,1
17	53	8,73	17,5	21,8	26,2
18	54	7,14	14,3	17,9	21,4
19	46	5,84	11,7	14,6	17,5
20	23	4,78	9,56	12,0	14,3

*Regredidos

Limitações

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

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

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

Os anticorpos 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

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

Factor de conversão:
IU/mL × 1,21 → ng/mL

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

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

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

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

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

Recuperação: Foram analisadas amostras de soro divididas 1-em-20 com três soluções AFP (286, 700 e 1324 IU/mL). Também foram analisadas amostras de líquido amniótico divididas 1-em-20 com três amostras de elevado teor de líquido amniótico (10 000, 20 000 e 36 000 IU/mL). (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

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

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

Biotina: As amostras que contenham biotina a uma concentração de 3500 ng/ml demonstram uma alteração igual ou inferior a 10% nos resultados.

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

Lipémia: A presença de lipémia iem concentrações até 3000 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

O ensaio foi comparado com o kit de AFP IMMULITE em amostras de líquido amniótico, numa amplitude de aproximadamente 3 a 20 kIU/mL*. (Veja o gráfico.) Por regressão linear:

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

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

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

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

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

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

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

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

Sensibilidade Clínica para Soro Materno, n = 9:

Semana gestacional	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15–20	100%	77,8%	66,7%
95% CI para todas as amostras	66,4%–100%	40,0%–97,2%	29,9%–92,5%

Especificidade Clínica para Soro Materno:

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

Sensibilidade Clínica para Líquido Amniótico, n = 8:

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

Especificidade Clínica para Líquido Amniótico:

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

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE is a trademark of Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2019 Siemens Healthcare Diagnostics. All rights reserved.

Origin: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

CE 0197

2019-10-03

PIL2KAP – 25

cc#EU23657

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol Definition

IVD

En: *In vitro* diagnostic medical device
De: Medizinisches Gerät zur *In-vitro* Diagnose
Es: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
Fr: Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
It: Dispositivo medico per diagnostica *in vitro*
Pt: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

REF

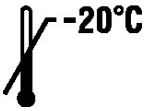
En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo

En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante

EC REP

En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia

Symbol	Definition
CE	**En:** CE Mark **De:** CE-Kennzeichen **Es:** Marca CE **Fr:** Marque CE **It:** Marchio CE **Pt:** Marca CE
CE XXXX	**En:** CE Mark with identification number of notified body **De:** CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle **Es:** Marca CE con número de identificación del organismo notificado **Fr:** Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié **It:** Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato **Pt:** Marca CE, com número de identificação do organismo notificado
	**En:** Consult instructions for use **De:** Bedienungshinweise beachten **Es:** Consulte las instrucciones de uso **Fr:** Consulter le mode d'emploi **It:** Consultare le istruzioni per l'uso **Pt:** Consulte as instruções de utilização
	**En:** Caution! Potential Biohazard **De:** Vorsicht! Biologisches Risikomaterial **Es:** ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial **Fr:** Avertissement ! Risque biologique potentiel **It:** Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico **Pt:** Atenção! Potenciais Riscos Biológicos
	**En:** Temperature limitation (2–8°C) **De:** Temperaturgrenze (2–8°C) **Es:** Limitación de temperatura (2–8°C) **Fr:** Limites de température (2–8°C) **It:** Limiti di temperatura (2–8°C) **Pt:** Limites de temperatura (2–8°C)

Symbol	Definition
	**En:** Upper limit of temperature (≤ -20°C) **De:** Obere Temperaturgrenze (≤ -20°C) **Es:** Límite superior de temperatura (≤ -20°C) **Fr:** Limite supérieure de température (≤ -20°C) **It:** Limite superiore di temperatura (≤ -20°C) **Pt:** Limite máximo de temperatura (≤ -20°C)
	**En:** Lower limit of temperature (≥ 2°C) **De:** Mindesttemperatur (≥ 2°C) **Es:** Límite inferior de temperatura (≥ 2°C) **Fr:** Limite inférieure de température (≥ 2°C) **It:** Limite inferiore di temperatura (≥ 2°C) **Pt:** Limite mínimo de temperatura (≥ 2°C)
	**En:** Do not freeze (> 0°C) **De:** Nicht einfrieren (> 0°C) **Es:** No congelar (> 0°C) **Fr:** Ne pas congeler (> 0°C) **It:** Non congelare (> 0°C) **Pt:** Não congelar (> 0°C)
	**En:** Do not reuse **De:** Nicht zur Wiederverwendung **Es:** No reutilizar **Fr:** Ne pas réutiliser **It:** Non riutilizzare **Pt:** Não reutilizar
	**En:** Keep away from sunlight **De:** Vor Sonneneinstrahlung schützen **Es:** Proteger de la luz solar **Fr:** Maintenir hors de portée de la lumière du soleil **It:** Non esporre alla luce del sole **Pt:** Manter afastado da luz solar
	**En:** Batch code **De:** Chargenbezeichnung **Es:** Número de lote **Fr:** Numéro de code du lot **It:** Codice lotto **Pt:** Código de lote

Symbol	Definition
	**En:** Contains sufficient for (n) tests **De:** Es reicht für (n) Tests **Es:** Contiene suficiente para (n) pruebas **Fr:** Contient du matériel suffisant pour (n) tests **It:** Contiene materiale sufficiente per (n) test **Pt:** Contém o suficiente para (n) testes
2008-01	**En:** Date format (year-month) **De:** Datumsformat (Jahr-Monat) **Es:** Formato de fecha (año-mes) **Fr:** Format de la date (année-mois) **It:** Formato data (anno-mese) **Pt:** Formato de data (ano-mês)
	**En:** Use by **De:** Verwendbar bis **Es:** Fecha de caducidad **Fr:** A utiliser avant **It:** Usare entro **Pt:** Usar até
	**En:** Health Hazard **De:** Gesundheitsgefährdung **Es:** Peligro para la salud **Fr:** Dangereux pour la santé **It:** Pericolo per la salute **Pt:** Perigo para a saúde
	**En:** Exclamation Mark **De:** Ausrufezeichen **Es:** Signo de exclamación **Fr:** Point d'exclamation **It:** Punto esclamativo **Pt:** Ponto de exclamação
	**En:** Corrosion **De:** Korrosion **Es:** Corrosión **Fr:** Corrosion **It:** Corrosione **Pt:** Corrosão
	**En:** Skull and Crossbones **De:** Totenkopf mit gekreuzten Knochen **Es:** Calavera y tibias cruzadas **Fr:** Tête de mort sur tibias croisés **It:** Teschio e tibie incrociate **Pt:** Caveira sobre tíbias cruzadas
	**En:** Environment **De:** Umwelt **Es:** Medio ambiente **Fr:** Environnement **It:** Ambiente **Pt:** Ambiente

Symbol	Definition
BEAD PACK	**En:** Bead Pack **De:** Kugel-Container **Es:** Cartucho de bolas **Fr:** Cartouche de billes **It:** Contenitore di biglie **Pt:** Embalagem de esferas
TEST UNIT	**En:** Test Unit **De:** Testeinheit **Es:** Unidades de análisis **Fr:** Unité de test **It:** Test Unit **Pt:** Unidades de Teste
REAG WEDGE **REAG WEDGE A** **REAG WEDGE B** **REAG WEDGE D**	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste

Symbol	Definition
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL CONTROL 1 CONTROL 2 CONTROL 3	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo

Symbol	Definition
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

Anti-HBc

For the Qualitative Detection of Total Antibodies to Hepatitis B Core Antigen in Human Serum

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 Anti-HBc

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE 2000 Systems Analyzers — for the qualitative detection of total antibodies against hepatitis B core antigen (HBcAg) in human serum or plasma (heparinized, sodium citrate or EDTA), as an aid in the determination of a prior immune status to the hepatitis B virus.

Catalog Number: **L2KHC2** (200 tests)

Test Code: **aBC** Color: **Light Gray**

Summary and Explanation

Hepatitis B virus (HBV) is the sole human pathogen in the family of hepatitis-associated DNA viruses, and is found world-wide. Distribution of HBV infection will vary among geographical areas and population groups. Transmission of the virus is due to parenteral contact, through the exchange of blood or blood products, sexual contact, and perinatal spread from mother to newborn.[1,2] Clinical manifestations range from mild asymptomatic infections to severe fulminant hepatitis.[1,2,3] Over 90% of infected adults will have an acute self-limiting infection,[1] with jaundice and abnormal liver function. Recovery occurs without any chronic sequelae.[1,2]

Chronic liver disease, a condition in which infection persists for more than six months, a known sequela of a hepatitis B infection, is usually progressive.[1,2] The risk of developing the chronic carrier state is more likely to follow infection acquired in childhood than as an adult.[4,5] In chronic HBV carriers, there is no evidence of continued hepatic damage,[1,2] however, the infection persists and the carrier maintains the ability to transmit the virus.[2]

Availability of recombinant HBV vaccines, and the recommendation of universal immunization for infants and other high-risk persons has aided in the prevention of HBV infections. In addition, treatment with alpha-interferon to relieve symptoms is available. Results have shown positive response to treatment in 40–50% of selected individuals with chronic active hepatitis B.[4,5]

Classification of a hepatitis B infection requires the identification of several serological markers expressed during three phases (incubation, acute and convalescent) of the infection. The first marker to appear during the incubation phase is HBsAg, and indicates an ongoing infection with HBV.[1,2,4] Anti-HBc appears shortly after the appearance of HBsAg and peaks during the acute phase prior to the appearance of anti-HBs. IgM antibody to the core antigen will decline in uncomplicated acute infection, whereas IgG antibody will persist for years.[4,5] Anti-HBc is also elevated in chronic HBV infections.[4]

Presence of anti-HBc indicates an ongoing or previous HBV infection. When used in conjunction with tests for other HBV serological markers, diagnosis of viral hepatitis can be achieved.

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 Anti-HBc is a solid-phase, chemiluminescent two-step 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.

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 Anti-HBc 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: 50 µL serum or plasma (heparinized, sodium citrate or EDTA).

Storage: 3 days at 2–8°C.[6]
For longer storage: at –20°C.[7]

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.



CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD
Contains human source material. Each donation of human blood or blood component was tested by FDA-approved methods for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) as well as for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis C virus (HCV). The test results were negative (not repeatedly reactive). No test offers complete assurance that these or other infectious agents are absent; this material should be handled using good laboratory practices and universal precautions.[8-10]

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.

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.

The Anti-HBc Adjustor, Anti-HBc Low Positive Control and Anti-HBc Positive Control contain HBcAg which has been inactivated by proven, documented methods. However, always handle all controls as if capable of transmitting infectious agents.

The concentration of anti-HBc in a given specimen with assays from different manufacturers can vary due to differences in assay methods and reagent specificity. Therefore, the results reported by the laboratory to the physician should include: "The following results were obtained with the IMMULITE 2000 Anti-HBc EIA. Results obtained from other manufacturers' assay methods may not be used interchangeably."

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.

Anti-HBc Bead Pack (L2HC12)
With barcode. 200 beads coated with purified recombinant HBcAg. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KHC2: 1 pack.

Anti-HBc Reagent Wedge (L2HCA2)
With barcode. 11.5 mL of a protein-based buffer, with preservative. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to purified monoclonal murine anti-HBc in buffer, with preservative. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KHC2: 1 wedge.

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

Anti-HBc Adjustor (LHCR)
2 mL human serum reactive to HBcAg in a buffer, with preservative. Stable at 2–8°C for 14 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KHC2: 1 vial.

Anti-HBc Controls (LHCC1, LHCC2, LHCC3)
Three vials containing 4 mL each. **LHCC1 (Negative Control):** human serum nonreactive to HBcAg, with preservative. **LHCC2, LHCC3 (Low Positive Control, Positive Control):** human serum reactive to HBcAg, with preservative. Stable at 2–8°C for 14 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KHC2: 1 set.

For the current control ratio ranges, please refer to the Control insert.

Aliquot Labels with barcodes are supplied with the kit, for use with the Adjustors and Controls. Before use, place the appropriate Aliquot Labels on test tubes, so the barcodes can be read by the barcode reader on the IMMULITE 2000.

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 Systems Operator's Manual.

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

Adjustment Interval: 4 weeks.

Quality Control Samples: The controls supplied with the kit should be used as quality control material to monitor assay performance.

For the current control ratio ranges, please refer to the Control insert.

Calculation of Cutoff and CO/S Ratio: The Master Cutoff of the assay was determined from representative samples to achieve optimal sensitivity and specificity for the assay.

The cutoff is set equal to the average counts per second of the Adjustor (from the most recent adjustment) multiplied by Curve Parameter 1. (See the “Low Adjustor CPS” and “Curve Parameter 1” fields in the IMMULITE 2000 Kit Information screen, which can be accessed from the menu via Data Entry : Kit Entry.)

Calculation of a cutoff/signal (co/s) ratio is done by using the following formula:

$$\text{CO/S Ratio} = \frac{\text{Mean Adjustor cps} \times \text{P1}}{\text{Sample or Control cps}}$$

Calculation and reporting of qualitative (reactive/nonreactive/indeterminate) and co/s ratio results are handled automatically by the IMMULITE 2000.

The result for a sample is “indeterminate” if the counts per second for that sample fall within ±15% of the cutoff. The result is “reactive” if the sample's counts are *below* the indeterminate range, and “nonreactive” if *above* this range.

Interpretation of Results

- A result of "**Reactive**" (co/s ratio of ≥ 1.15) indicates that the patient sample is reactive and that anti-HBc antibodies were detected in the sample, which is indicative of either ongoing or previous infection.
- A result of “**Nonreactive**” (co/s ratio of < 0.85) indicates that the patient sample is nonreactive and that anti-HBc antibodies were not detected in the sample.
- Any result of "**Indeterminate**" (co/s ratio between 0.85 and < 1.15) should be retested. Samples which still test as "Indeterminate" should be tested by an alternate method, or a second sample should be taken — if possible — within a reasonable period of time (e.g., one week).

The results reported by the laboratory to the physician should include: “The following results were obtained with the IMMULITE 2000 Anti-HBc EIA. Values obtained from other manufacturers' assay methods may not be used interchangeably.”

Expected Values

Individuals acutely infected with the hepatitis B virus will exhibit anti-HBc between two weeks and four months after exposure, usually through the course of clinical illness.[4] Antibody levels persist for life.

Limitations

The measurement of Anti-HBc may be affected by the presence of elevated levels of human albumin.

The results of the test must be taken within the context of the patient's clinical and vaccination history, symptomology and other laboratory findings.

A nonreactive result does not indicate that the patient was not infected with HBV. The patient sample should be tested for the presence of other serological markers, such as HBsAg or anti-HBc IgM.

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 as a cutoff-to-signal ratio. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

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.)

Bilirubin: Presence of unconjugated bilirubin in concentrations up to 400 mg/L has no effect on results, within the precision of the assay.

Biotin: Specimens that contain biotin at a concentration of 5 ng/mL demonstrate a less than or equal to 10% change in results. Biotin concentrations greater than this may lead to falsely depressed results for patient samples.

Results from patients taking biotin supplements or receiving high-dose biotin therapy should be interpreted with caution due to possible interference with this test.

Hemolysis: Presence of hemoglobin in concentrations up to 504 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: Blood was collected from 57 laboratory volunteers into plain, heparinized, sodium citrate and EDTA vacutainer tubes, spiked with anti-HBc and then assayed by the IMMULITE 2000 Anti-HBc procedure. Results are expressed as a cutoff-to-signal ratio.

(Heparin) = 0.98 (Serum) + 0.018
r = 0.99

(NaCitrate) = 1.07 (Serum) + 0.027
r = 0.94

(EDTA) = 0.97 (Serum) + 0.031
r = 0.99

Means:
0.255 (Serum)
0.269 (Heparin)
0.301 (NaCitrate)
0.280 (EDTA)

Method Comparison 1: The assay was compared to IMMULITE Anti-HBc on 139 patient samples.

	IMMULITE 2000			
IML	Reac	Non-reac	Relative Sensitivity	Relative Specificity
Reactive	60	0	100%	98.7%
Non-reactive	1	78		

Agreement: 99.3%

Method Comparison 2: The IMMULITE 2000 Anti-HBc procedure was compared to the Elecsys Anti-HBc immunoassay on 2,219 samples, consisting of seroconversion panels, potentially cross-reactive samples, samples from patients with acute, chronic and resolved HBV infection, from blood donors, hospitalized patients, and routine samples. The table below presents the results of this study.

	No. of samples					
	anti-HBc reactive	anti-HBc non-reactive	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
IMMULITE 2000 Anti-HBc						
Reactive	263	1	98.9%	99.9%	99.6%	99.8%
Non-reactive	3	1,953				
Elecsys Anti-HBc						
Reactive	266	9	100%	99.5%	96.7%	100%
Non-reactive	0	1,944				

References

1) Locarnini SA, Gust ID. Hepadnaviridae: hepatitis B virus and the delta virus. In: Balows A, et al, editors. Laboratory diagnosis of infectious diseases: principles and practices. New York: Springer-Verlag, 1988: 750-96. 2) Follett EAC. Diagnosis of hepatitis B infection. In: Young H, McMillan A, editors. Immunological diagnosis of sexually transmitted diseases. New York: Marcel Dekker, 1988: 433-49. 3) Hollinger FB, Dienstag JL. Hepatitis B and D viruses. In: Lennette EH, et al, editors. Manual of clinical microbiology. 6th ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1995:1033-49. 4) Nowicki MJ, Balistreri WF. Hepatitis A to E: building up the alphabet. Contemporary Peds 1992: 118-28. 5) Zuckerman AJ, et al. Hepatitis B virus and hepatitis D virus. In: Principles and practice of clinical virology. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 1992: 153-72. 6) Tietz NW, editor. Clinical guide to laboratory tests. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1995:354-60. 7) Tietz NW, editor. Clinical guide to laboratory tests. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1995:322-4. 8) Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. MMWR, 1988;37:377–82, 387–8. 9) Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3. 10) Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030.

Technical Assistance

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

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

Precision (ratio)

		Intraassay[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	0.32	0.009	3.0%	0.018	5.7%
2	0.53	0.019	3.6%	0.034	6.3%
3	1.03	0.037	3.6%	0.073	7.0%
4	1.70	0.071	4.2%	0.119	7.0%
5	1.93	0.102	5.3%	0.163	8.5%
6	3.11	0.142	4.6%	0.265	8.5%

Deutsch. **Precision**: [1]Intraassay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]S (Standardabweichung), [5]CV (Variationskoeffizient).

Español. **Precision**: [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV.

Français. **Precision**: [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]SD, [5]CV.

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione).

Português. **Precision**: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação.

Deutsch

Anti-HBc

Anwendung: Zur in vitro-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme — zur qualitativen Bestimmung der Gesamtantikörper gegen Hepatitis-B-Core-Antigen (HBcAg) in Humanserum bzw. - plasma (Heparin, Na-Citrat oder EDTA) als Hilfestellung zur Ermittlung eines früheren Immunstatus gegen das Hepatitis-B-Virus.

Artikelnummer:
L2KHC2 (200 Tests)

Testcode: **aBC** Farbe: **hellgrau**

Klinische Relevanz

Das Hepatitis-B-Virus (HBV) ist weltweit anzutreffen. Es ist das einzige Hepatitis-assoziierte DNS-Virus, das den Menschen infiziert. Die Verteilung der HBV-Infektionen variiert nach geografischen Regionen und Bevölkerungsgruppen. Übertragen wird das Virus durch parenteralen Kontakt, den Austausch von Blut bzw. Blutprodukten, sexuellen Kontakt und perinatale Übertragung von der Mutter auf das Neugeborene.[1,2] Die klinischen Manifestationen reichen von leichten beschwerdefreien Infektionen bis hin zu schwerer fulminanter Hepatitis.[1,2,3] Mehr als 90 % aller infizierten Erwachsenen erkranken an einer akuten ausheilenden Infektion[1] mit Gelbsucht und Leberfunktionsstörungen. Diese Patienten erholen sich ohne chronische Folgekrankheiten.[1,2]

Chronische Lebererkrankungen, bei denen die Infektion mehr als sechs Monate lang anhält, sind eine bekannte und üblicherweise progrediente Folgeerscheinung von Hepatitis-B-Infektionen.[1,2] Das Risiko, zu einem chronischen Träger zu werden, ist nach Infektionen im Kindesalter höher als bei Erwachsenen.[4,5] Chronische HBV-Träger zeigen keine fortwährenden Leberschäden[1,2], die Infektion ist jedoch präsent und eine Übertragung des Virus möglich.[2]

Durch die Verfügbarkeit von rekombinanten HBV-Impfstoffen sowie die allgemeine Impfempfehlung bei Kleinkindern und anderen Risikogruppen ist heute eine bessere Prophylaxe für HBV-Infektionen gegeben. Hinzu kommt die Möglichkeit einer symptomatischen Behandlung mit α-Interferon. Es konnte gezeigt werden, dass bei 40–50% der Patienten mit aktiver chronischer Hepatitis-B ein positives Ansprechen auf die Behandlung zu erwarten ist.[4,5]

Um eine Hepatitis-B-Infektion einordnen zu können, ist die Auswertung von diversen in den drei verschiedenen Infektionsphasen (Inkubations-, Akut- und Rekonvaleszenzphase) exprimierten serologischen Markern erforderlich. Der erste, in der Inkubationsphase auftretende Marker ist HBsAg. Er weist auf ein aktuelles HBV-Infektionsgeschehen hin.[1,2,4] Anti-HBc tritt kurz nach dem HBsAg in Erscheinung und erreicht seinen Spitzenwert in der akuten Phase vor dem Erscheinen von Anti-HBs. Bei komplikationslosem Verlauf der akuten Infektion gehen die gegen das Core-Antigen gerichteten IgM-Antikörper wieder zurück, während die IgG-Antikörper über Jahre hinaus erhöht bleiben.[4,5] Chronische HBV-Infektionen gehen ebenfalls mit erhöhten Anti-HBc-Werten einher.[4]

Positive Anti-HBc-Befunde deuten auf eine aktuelle oder vergangene HBV-Infektion hin. In Verbindung mit Tests zur Bestimmung weiterer serologischer HBV-Marker kann eine virale Hepatits diagnostiziert werden.

Methodik

IMMULITE 2000 Anti-HBc ist ein Festphasen, Chemilumineszenz Zweischritt Immunoassay.

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 zurückhaltend zu interpretieren.

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

von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter 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 Anti-HBc sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 50 µl Serum oder Plasma (Heparin, Na-Citrat oder EDTA).

Lagerung: 3 Tage bei 2–8°C.[6] Zur längeren Lagerung: bei –20°C.[7]

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *In-vitro*-Diagnostik.



VORSICHT! BIOLOGISCHES RISIKOMATERIAL
Enthält Material humanen Ursprungs. Alle Blutspenden oder Blutkomponenten menschlicher Herkunft wurden nach FDA-genehmigten Methoden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die HI-Viren Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2) sowie von Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und Antikörpern gegen den Hepatitis C-Virus (HCV) getestet. Die Testergebnisse waren negativ (nicht wiederholt reaktiv). Durch keinen Test kann das Vorhandensein dieser oder anderer infektiöser Stoffe vollständig ausgeschlossen werden. Dieses Material ist mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und gemäß der allgemein anerkannten guten Laborpraxis zu handhaben.[8-10]

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.

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

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

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

Der Kalibrator, die Schwachpositivkontrolle und die Positivkontrolle für das Anti-HBc-Testsystem enthalten HBcAg, das mit bewährten, belegten Methoden inaktiviert wurde. Trotzdem sollten alle Kontrollen stets so gehandhabt werden, als könnten sie Keime übertragen.

Unterschiede in der jeweiligen Methodik oder der Spezifität der Reagenzien können dazu führen, das die mit Testsystemen von verschiedenen Herstellern ermittelten Konzentrationen an anti-HBc für dieselben Proben nicht einheitlich sind. Die vom Labor an den Arzt gemeldeten Ergebnisse sollten den folgenden Passus enthalten: „Die folgenden Ergebnisse wurden mit dem IMMULITE 2000-Testsystem zur Bestimmung von anti-HBc erzielt. Sie sind mit den Ergebnissen aus Testsystemen anderer Hersteller nicht austauschbar.“

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

Wasser: Destilliertes oder deionisiertes Wasser verwenden.

Im Lieferumfang enthalten

Die Bestandteile sind aufeinander abgestimmt. Die Barcode Labels auf der Innenverpackung werden zur Testdurchführung benötigt.

Anti-HBc Kugel-Container (L2HC12)
Mit Barcode. Kugel-Container enthält 200 mit gereinigtem rekombinantem HBcAg beschichtete Kugeln. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KHC2: 1 Container

Anti-HBc Reagenzbehälter (L2HCA2)
Mit Barcode. 11,5 ml: Proteinpufferlösung mit Konservierungsmittel. 11,5 ml mit alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugierter purifizierter monoklonaler Anti-HBc-Mausantikörper in Pufferlösung (mit Konservierungsmittel). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KHC2: 1 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.

Anti-HBc Kalibrator (LHCR)
2 ml HBcAg-reaktives Humanserum in Pufferlösung (mit Konservierungsmittel). 14 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KHC2: 1 Fläschchen.

Anti-HBc Kontrollen (LHCC1, LHCC2, LHCC3)
Drei Fläschchen jeweils mit 4 ml. **LHCC1 (Negativkontrolle):** HBcAg-nichtreaktives Humanserum (mit Konservierungsmittel). **LHCC2, LHCC3 (Schwachpositiv-kontrolle, Positivkontrolle):** HBcAg-reaktives Humanserum (mit Konservierungsmittel). 14 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KHC2: 1 Set.

Die aktuellen Bereiche für das Kontrollverhältnis entnehmen Sie bitte der Packungsbeilage zur Kontrolle.

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

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: (Wegwerf-) Reaktionsgefäße

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Teströhrchen.

Testdurchführung

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

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

Kalibrationsintervall: 4 Wochen.

Qualitätskontrollseren: Die im Lieferumfang enthaltene(n) Kontrolle(n) dient/dienen zur Qualitätskontrolle für die Überwachung des Testsystems.

Die aktuellen Bereiche für das Kontrollverhältnis entnehmen Sie bitte der Packungsbeilage zur Kontrolle.

Ergebnisse: Zur Gewährleistung optimaler Sensitivität und Spezifität wurden repräsentative Proben zur Ermittlung des „Cutoff“ verwendet.

Der „Cutoff“ errechnet sich aus den Durchschnitts-Messwerten des Adjustors pro Sekunde (Mittelwert cps) multipliziert mit dem Kurvenparameter P1. (Siehe auch „Schwach-Positiv” Adjustor cps und Kurvenparameter 1 in der IMMULITE 2000 Kitinformationssoftware, die über das Menü „Data Entry / Kit Entry“ erreicht werden kann).

Die Berechnung des Cutoff/Signal-Ratio (co/s-Ratio) erfolgt mittels folgender Formel:

$$\text{co/s-Ratio} = \frac{\text{Mittelwert Adjustor cps} \times \text{P1}}{\text{Probe- oder Kontroll cps}}$$

Die Berechnung der co/s-Ratio und die Angabe qualitativer Ergebnisse (reaktiv / nicht-reaktiv /grenzwertig) erfolgt automatisch durch das IMMULITE 2000.

Ein Ergebnis für eine Probe ist „grenzwertig“, wenn die *cps* im Graubereich von ± 15% des Cutoffs liegen. Das Ergebnis ist „reaktiv“, wenn der Messwert für die betreffende Probe *unter* dem Graubereich liegt und „nicht-reaktiv“, wenn es *darüber* liegt.

Interpretation der Ergebnisse

- Ein „**Reaktiv**“ Ergebnis (co/s ≥ 1,15) weist darauf hin, dass die betreffende Patientenprobe reaktiv ist und dass in der Probe Anti-HBc-Antikörper erkannt wurden, was auf eine aktuelle oder frühere Infektion schließen lässt.
- Ein „**Nicht-reaktiv**“ Ergebnis (co/s-Ratio < 0,85) weist darauf hin, dass die betreffende Patientenprobe nichtreaktiv ist und dass in der Probe keine anti-HBc-Antikörper erkannt wurden.
- Jedes **grenzwertige** Ergebnis (co/s-Ratio ≥ 0,85 und < 1,15 sollte erneut getestet werden. Sollte auch nach Testwiederholung ein grenzwertiges Ergebnis vorliegen, so sollte die Probe mit einer alternativen Methode getestet werden oder innerhalb eines entsprechenden Zeitraums (z. B. 1 Woche) eine neue Probe abgenommen werden.

Die vom Labor an den Arzt gemeldeten Ergebnisse sollten den folgenden Passus enthalten: „Die folgenden Ergebnisse wurden mit dem IMMULITE 2000-Testsystem zur Bestimmung von anti-HBc erzielt. Sie sind mit den Ergebnissen aus Testsystemen anderer Hersteller nicht vergleichbar.“

Referenzwerte

Akut mit Hepatitis-B-Viren infizierte Patienten zeigen zwischen zwei Wochen und vier Monaten nach der Exposition positive Anti-HBc-Befunde, normalerweise bis zum Ende des klinischen Krankheitsverlaufs.[4] Anti-HBc-Antikörperspiegel können lebenslang persistieren.

Grenzen der Methode

Die Bestimmung von Anti-HBc kann durch die Anwesenheit von erhöhten Humanalbumin Konzentrationen beeinflusst werden.

Die Testergebnisse sind im Zusammenhang mit der klinischen Anamnese, der vorliegenden Symptome sowie weiterer Laborbefunde zu bewerten.

Umgekehrt lässt ein nicht-reaktiv Ergebnis nicht darauf schließen, dass der betreffende Patient nicht mit HBV infiziert ist. Die Patientenprobe sollte auf das Vorhandensein weiterer serologischer Marker wie etwa HBsAg oder Anti-HBc-IgM getestet werden.

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 Ergebnise sind in „Cutoff-Signal-Ratio“-Werten angegeben. Alle Daten wurden – sofern nicht anders angegeben – aus Serumproben in Röhrchen ohne Trenngel oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.

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

Bilirubin: Unkonjugiertes Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 400 mg/l keinen Einfluss auf die Messung, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Biotin: Proben, die Biotin in einer Konzentration von 5 ng/ml enthalten, zeigen eine Veränderung der Ergebnisse von kleiner oder gleich 10 %. Höhere Biotinkonzentrationen können zu falsch niedrigen Ergebnissen für Patientenproben führen.

Ergebnisse für Patienten, die Biotinpräparate einnehmen oder eine hochdosierte Biotintherapie erhalten, sollten aufgrund der möglichen Interferenz mit diesem Test vorsichtig interpretiert werden.

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 504 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.

Alternativer Probentyp: Zu diesem Zweck wurden Blutproben von 57 Laborprobanden in unbehandelte, heparinisierte, Na-Citrat und EDTA-behandelte Vacutainer-Röhrchen gefüllt, mit anti-HBc versetzt und dann mit dem Anti-HBc-Verfahren für den IMMULITE 2000 ausgetestet. Die Ergebnise sind in „Cutoff-Signal-Ratio“-Werten angegeben.

(Heparin) = 0,98 (Serum) + 0,018
r = 0,99

(Na-Citrat) = 1,07 (Serum) + 0,027
r = 0,94

(EDTA) = 0,97 (Serum) + 0,031
r = 0,99

Mittelwert:
0,255 (Serum)
0,269 (Heparin)
0,301 (Na-Citrat)
0,280 (EDTA)

Methodenvergleich 1: Dieses Testsystem wurde unter Verwendung von 139 Patientenproben mit dem IMMULITE anti-HBc verglichen.

	IMMULITE 2000			
IML	Reaktiv	Nicht-reaktiv	Relative Sensitivität	Relative Spezifität
Reaktiv	60	0	100%	98,7%
Nicht-reaktiv	1	78		

Übereinstimmung: 99,3%

Methodenvergleich 2: In einer Studie wurde der IMMULITE 2000 Anti-HBc-Assay mit dem Elecsys Anti-HBc Immunoassay anhand von 2 219 Proben verglichen. Die Proben setzten sich aus nachfolgend aufgeführten Kollektiven zusammen: Serokonversionspanels, potentiell kreuzreaktive Seren, Proben von Patienten mit akuter, chronischer und durchgemachter Infektion, Blutspender und Proben aus einem diagnostischen Routinelabor.

	Anzahl der Proben					
	anti-HBc Reaktiv	anti-HBc Nicht-reaktiv	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV
IMMULITE 2000 Anti-HBc						
Reaktiv	263	1	98,9%	99,9%	99,6%	99,8%
Nicht-reaktiv	3	1 953				
Elecsys Anti-HBc						
Reaktiv	266	9	100%	99,5%	96,7%	100%
Nicht-reaktiv	0	1 944				

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

Anti-HBc

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE 2000 — para la cuantificación de anticuerpos totales contra el antígeno nuclear de hepatitis B (HBcAg) en suero humano o plasma (heparinizado, con citrato de sodio o EDTA), como una ayuda para la determinación de un estado de inmunidad previo para el virus de la hepatitis B.

Números de Catálogo:
L2KHC2 (200 tests)

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

Resumen y Explicación del Test

El virus de la hepatitis B (HBV) es el único patógeno humano de la familia de los virus de ADN asociados a hepatitis, y se encuentra en todo el mundo. La distribución de la infección por HBV variará entre áreas geográficas y grupos de población. La transmisión del virus se produce por contacto parenteral, a través del intercambio de sangre o productos sanguíneos, contacto sexual y contagio perinatal de la madre al recién nacido.[1,2] Las manifestaciones clínicas van desde infecciones asintomáticas suaves a hepatitis fulminante grave.[1,2,3] Más del 90% de los adultos infectados padecerán una infección aguda autolimitada,[1] con ictericia y funcionamiento anormal del hígado. La recuperación se produce sin secuelas crónicas.[1,2]

La enfermedad hepática crónica, un estado en el cual la infección persiste durante más de seis meses, secuela conocida de la infección por hepatitis B, suele ser progresiva.[1,2] El riesgo de desarrollar el estado de portador crónico es más probable si la infección se adquiere durante la infancia que si se adquiere durante la edad adulta.[4,5] En los portadores crónicos de HBV no hay evidencia de daño hepático continuado, aunque la infección persiste y el portador conserva la capacidad de transmitir el virus.[2]

La disponibilidad de vacunas recombinantes para HBV y la recomendación de inmunización universal para los niños y otras personas de alto riesgo ha contribuido a la prevención de la infección por HBV. Además, se encuentra disponible un tratamiento con interferón alfa para aliviar los síntomas. Los resultados demuestran una respuesta positiva al tratamiento en el 40 al 50% de los individuos seleccionados con hepatitis B crónica activa.[4,5]

La clasificación de una infección por hepatitis B requiere la identificación de varios marcadores serológicos que se expresan durante las tres fases de la infección (incubación, fase aguda y convalecencia). El primer marcador que aparece durante la fase de incubación es HBsAg, e indica una infección por HBV en curso.[1,2,4] Anti-HBc aparece poco después de HBsAg, y alcanza su máximo antes de que aparezca anti-HBs. Los anticuerpos IgM para el antígeno nuclear descienden en una infección aguda sin complicaciones, mientras que los anticuerpos IgG persisten durante años.[4,5] El nivel de Anti-HBc es también elevado en las infecciones HBV crónicas.[4]

La presencia de anti-HBc indica una infección por HBV en curso o previa. Cuando se utiliza junto con análisis para otros marcadores serológicos HBV, puede conseguirse el diagnóstico de la hepatitis viral.

Principio del Análisis

IMMULITE 2000 Anti-HBc es un Inmunoensayo quimioluminiscente en fase sólida, de dos pasos.

Ciclos de incubación: 2 × 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 centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El Anti-HBc 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: 50 µl suero o plasma (heparinizado, con citrato de sodio o EDTA).

Conservación: 3 días a 2–8°C.[6] Para almacenar por períodos más prolongados: a –20°C.[7]

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.



¡PRECAUCIÓN! RIESGO BIOLÓGICO POTENCIAL
Contiene material de origen humano. Cada donación de sangre humana o componente sanguíneo ha sido probada por métodos aprobados por la FDA con el fin de detectar la presencia de anticuerpos de los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2), así como el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y el anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (VHC). Los resultados de estas pruebas fueron negativos (no repetidamente reactivos). Ninguna prueba ofrece total garantía de que en las muestras no haya estos agentes infecciosos u otros; por tanto, este material se deberá manipular conforme a las prácticas recomendables de laboratorio y las precauciones universales[8-10].

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.

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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las canerias de cobre y plomo.

El ajustador de Anti-HBc y los controles positivo y positivo bajo de Anti-HBc contienen HBcAg inactivado mediante métodos documentados y probados. No obstante, siempre hay que manejar los controles como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos.

La concentración de Anti-HBc en una muestra dada, determinada mediante ensayos de distintos fabricantes, puede variar debido a diferencias en los métodos de ensayo y la especificidad del reactivo. Los resultados enviados por el laboratorio al médico deberían incluir lo siguiente: "Los siguientes resultados se han obtenido con el ensayo de Anti-HBc IMMULITE 2000. No se pueden intercambiar con los valores obtenidos con los métodos de ensayo de otros fabricantes."

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

Agua: Usar agua destilada o desionizada.

Materiales Suministrados

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

Cartucho de bolas de Anti-HBc (L2HC12)
Con códigos de barras. 200 bolas recubiertas con HbcAg recombinante purificado. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KHC2: 1 cartucho.

Vial de reactivo de Anti-HBc (L2HCA2)
Con códigos de barras. 11,5 ml un tampón con proteína proteína, con conservante. 11,5 ml Fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con anticuerpo monoclonal murino anti-HBc purificado en solución tampón, con conservante. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KHC2: 1 vial.

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.

Ajustadore de Anti-HBc (LHCR)
2 ml de Suero humano reactivo a HBcAg, en solución tampón, con conservante. Estable a 2–8°C durante 14 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KHC2: 1 vial.

Controles de Anti-HBc (LHCC1, LHCC2, LHCC3)
Tres viales de cada uno con 4 ml. **LHCC1 (Control negativo):** Suero humano no reactivo a HBcAg, con conservante.
LHCC2, LHCC3 (Control bajo positivo, Control Positivo): Suero humano reactivo a HBcAg, con conservante. Estable a 2–8°C durante 14 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KHC2: 1 juego.

Para los intervalos control actuales, por favor consulte el prospecto del Control.

Antes de procesar adjustadores o controles, 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: Substrato 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

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

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

Intervalo de ajuste: 4 semanas.

Muestras de Control de calidad: El módulo control deberá usarse como un control de calidad para controlar el funcionamiento del ensayo.

Para los intervalos control actuales, por favor consulte el prospecto del Control.

Calculo del Cutoff Ratio CO/S: El valor de corte del ensayo se determinó a partir de muestras representativas para obtener una sensibilidad y especificidad óptimas para el ensayo.

El cutoff es obtenida de la media de las cuentas por segundo (media de cps) del ajustador bajo (del ajuste mas reciente) multiplicada por el parametro 1 de la curva. (Ver "Low Adjustor CPS" and "Curve Parameter 1" dentro de la pantalla de Información de Kit en el IMMULITE 2000)

El cálculo del ratio cutoff/señal (co/s) se realiza utilizando la formula siguiente:

$$\text{CO/S Ratio} = \frac{\text{Media cps Ajustador} \times \text{P1}}{\text{cps Muestra o Control}}$$

El cálculo nos mostrará un informe cualitativo (reactivo / no reactivo / indeterminado) y co/s se mostrarán automaticamente por el IMMULITE 2000.

El resultado para una muestra es informado como “Indeterminado” si las cuentas por segundo para la muestra entran dentro del ±15% del cutoff. El resultado es informado como “reactivo” si las cuentas de la muestra están sobre este rango indeterminado, y “no reactivo” si están por debajo del rango.

Interpretación de Resultados

- Un resultado "**Reactivo**" (ratio co/s $\geq$ 1,15) indica que la muestra del paciente es reactiva, y que se detectaron anticuerpos anti-HBc en la muestra, lo que indica una infección en curso o una infección anterior.
- Un resultado "**No reactivo**" (ratio co/s $<$ 0,85) indica que la muestra del paciente no es reactiva, y que no se detectaron anticuerpos anti-HBC en la muestra.
- Debe repetirse la prueba para cualquier resultado "**Indeterminado**" (ratio co/s entre 0,85 y $<$ 1,15). Deberían ser repetidas. Las muestras cuyos resultados sigan siendo "Indeterminados" deberían analizarse por un método alternativo, o bien debe tomarse una segunda muestra, si es posible, dentro de un periodo de tiempo razonable (por ejemplo, una semana).

Los resultados enviados por el laboratorio al médico deberían incluir lo siguiente: "Los siguientes resultados se han obtenido con el ensayo de Anti-HBc IMMULITE 2000. No se pueden intercambiar con los valores obtenidos con los métodos de ensayo de otros fabricantes."

Valores Esperados

Los individuos que padecen infección aguda por el virus de la hepatitis B exhibirán anti-HBc de dos semanas a cuatro meses después de la exposición al virus, normalmente en el curso de la enfermedad clínica.[4] Los niveles de anticuerpos persisten durante toda la vida.

Limitaciones

Los valores de Anti-HBc pueden afectarse por la presencia de niveles elevados de albúmina humana.

Los resultados del análisis deben contemplarse en el contexto del historial clínico de los pacientes, de su sintomatología y de los demás hallazgos del laboratorio.

Un resultado no reactivo no indica que el paciente no esté infectado con HBV. La muestra del paciente debe analizarse para detectar la presencia de otros marcadores serológicos, tales como HBsAg o anti-HBc IgM.

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

Características Analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo ver las tablas y los gráficos. Los resultados son expresados como ratio de la cufoff al señal. (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).

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

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina libre en concentraciones hasta 400 mg/l no tiene efecto en el ensayo, en lo concerniente a la precisión del ensayo.

Biotina: Las muestras que contienen biotina en una concentración de 5 ng/ml han demostrado un cambio igual o inferior al 10% en los resultados. Las concentraciones de biotina superiores a esta pueden producir resultados falsamente disminuidos en las muestras de los pacientes.

Los resultados de pacientes que tomen suplementos de biotina o reciban un tratamiento con dosis elevadas de biotina se deben interpretar con precaución debido a la posible interferencia con esta prueba.

Hemolisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 504 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.

Tipo de Muestra Alternativa: Se recogió sangre de 57 voluntarios de laboratorio en tubos vacutainer sin anticoagulante, heparinizados, citrato sódico, EDTA, cargados con anti-HBc, y a continuación se analizó con el procedimiento IMMULITE 2000 Anti-HBc. Los resultados son expresados como ratio de la cufoff al señal.

(Heparina) = 0,98 (Suero) + 0,018
r = 0,99

(NaCitrato) = 1,07 (Suero) + 0,027
r = 0,94

(EDTA) = 0,97 (Suero) + 0,031
r = 0,99

Media:
0,255 (Suero)
0,269 (Heparina)
0,301 (NaCitrato)
0,280 (EDTA)

Comparación de los métodos 1: El ensayo se ha comparado con el Anti-HBc IMMULITE en 139 muestras de pacientes.

	IMMULITE 2000			
IML	Reac	No reac	Sensibilidad Relativa	Especificidad Relativa
Reactivo	60	0	100%	98,7%
No reactivo	1	78		

Concordancia: 99,3%

Comparación de los métodos 2: Se comparó el procedimiento Anti-HBc IMMULITE 2000 con el inmunoensayo Anti-HBc Elecsys en 2 219 muestras. Las muestras consistieron de paneles de seroconversión, muestras con reactividad cruzada potencial, muestras de pacientes con infección HBV crónica aguda y resuelta, de donantes de sangre y de pacientes hospitalizados y muestras de rutina. La tabla de abajo presenta los resultados de este estudio.

	No. de muestras					
	anti-HBc Reactivo	anti-HBc No reactivo	Sensibili-dad	Especifici-dad	PPV	NPV
IMMULITE 2000 Anti-HBc						
Reactivo	263	1	98,9%	99,9%	99,6%	99,8%
No reactivo	3	1 953				
Elecsys Anti-HBc						
Reactivo	266	9	100%	99,5%	96,7%	100%
No reactivo	0	1 944				

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

IMMULITE 2000 Anti-HBc

Domaine d'utilisation : Dosage qualitatif des anticorps totaux dirigés contre l'antigène de core du virus de l'hépatite B (HBcAg), dans le sérum ou le plasma (hépariné, citraté ou EDTA) humain. Réservé à un usage diagnostique *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000, ce test constitue une aide pour la détermination du statut immunologique vis-à-vis du virus de l'hépatite B.

Référence catalogue :
L2KHC2 (200 tests)

Code produit : **aBC**
Code couleur : **gris clair**

Introduction

Le virus de l'hépatite B (HBV) est l'unique virus humain pathogène de la famille des virus à ADN associés à une hépatite. Il est ubiquitaire. La distribution de l'infection à HBV est variable selon les zones géographiques et les groupes de population. Le virus est transmis par contact parentéral, par le sang ou les produits sanguins, par contact sexuel ou par contamination périnatale de la mère à l'enfant.[1,2] Les manifestations cliniques vont de l'infection asymptomatique modérée à l'hépatite fulminante.[1,2,3] Plus de 90 % des adultes infectés auront une infection aiguë, avec ictère et dysfonctionnement hépatique, qui guérira d'elle même.[1] La guérison ne s'accompagne d'aucune séquelle chronique.[1,2]

L'hépatite chronique, état clinique où l'infection dure plus de 6 mois, est une séquelle connue et habituellement progressive[1,2] d'une infection par le virus de l'hépatite B. Le risque de devenir porteur chronique est plus important après une infection contractée dans l'enfance qu'à l'âge adulte.[4,5] Il n'y a pas toujours de signe de lésion hépatique chez les porteurs chroniques,[1,2] mais l'infection persiste et le porteur reste contagieux.[2]

La mise au point de vaccins recombinants pour l'HBV et la vaccination systématique recommandée chez les enfants et les

personnes très exposées, ont été utiles à la prévention des infections par l'HBV. De plus, le traitement symptomatique par l'interféron alpha est maintenant disponible. Les résultats montrent une réponse positive au traitement chez 40 à 50% d'individus sélectionnés ayant une hépatite B chronique active.[4,5]

La classification d'une infection par l'HBV nécessite la recherche de plusieurs marqueurs sérologiques exprimés au cours des trois phases (incubation ; phase aiguë ; convalescence) de l'infection. Le premier marqueur apparaissant dans le sérum est l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (HBsAg). La présence de cet antigène témoigne d'une infection en cours par l'HBV.[1,2,4] Les anticorps anti-HBc apparaissent peu après l'antigène HBs et atteignent un pic durant la phase aiguë avant l'apparition des anticorps anti-HBs. Les anticorps IgM dirigés contre l'antigène du core diminueront en cas d'infection aiguë sans complication, alors que les anticorps IgG persisteront des années.[4,5] Les anticorps anti-HBc sont également élevés en cas d'infection chronique par l'HBV.[4]

La présence d'anticorps anti-HBc témoigne d'une infection par l'HBV en cours ou antérieure. Combinée aux résultats d'autres tests dosant les marqueurs sérologiques de l'HBV, elle permet d'établir le diagnostic d'hépatite virale.

Principe du test

IMMULITE 2000 Anti-HBc est un Immunodosage chimiluminescent en deux étapes, 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 signe d'une souffrance du prélèvement avant son arrivée 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 dûs 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 Anti-HBc 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 : 50 µl de sérum ou de plasma (hépariné, citraté ou EDTA).

Conditions de conservation :
3 jours à +2°C/+8°C.[6] Pour une conservation prolongée : à –20°C.[7]

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.



AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL
Contient du matériel d'origine humaine. Chaque don de sang ou de composant sanguin humain a été testé selon des méthodes homologuées par la FDA afin de détecter la présence d'anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2), ainsi que la présence d'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) et d'anticorps anti-virus de l'hépatite C (VHC). Les résultats de ces tests se sont révélés négatifs (ou positifs mais de façon non répétable). Aucun test ne peut garantir totalement l'absence d'agents infectieux tels que ceux-ci ou d'autres. Par conséquent, ce matériel doit être manipulé conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux précautions universelles.[8-10]

AVERTISSEMENT : Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.

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

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

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

L'ajusteur, les contrôles Anti-HBc positif et positif faible contiennent de l'HBcAg qui a été inactivé selon des méthodes avérées et documentées. Néanmoins, il convient de toujours manipuler les contrôle comme s'ils étaient des agents potentiellement infectieux.

Pour un échantillon donné, la concentration d'anticorps Anti-HBc dosée par les tests de différents fabricants pourra varier en raison des différences des méthodes utilisées et de la spécificité des réactifs. Les résultats adressés par le laboratoire au médecin devront comporter la mention suivante : « Les résultats suivants ont été obtenus avec le dosage IMMULITE 2000 Anti-HBc. Les résultats obtenus avec d'autres procédés de dosage du marché ne doivent pas y être substitués. »

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 Anti-HBc (L2HC12)
Avec code-barre. 200 billes revêtues d'antigène HBc recombinant purifié. Stable à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KHC2: 1 cartouche.

Cartouche à réactif Anti-HBc (L2HCA2)
Avec code-barres. 11,5 ml de tampon à base de protéines, avec conservateur. 11,5 ml d'anticorps monoclonal murin purifié anti-HBc marqué à la phosphatase alcaline (intestins de veau) dans un tampon avec conservateur. Stable à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KHC2: 1 cartouche.

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.

Ajusteur Anti-HBc (LHCR)
2 ml de sérum humain réactif pour l'HBcAg dans un tampon avec conservateur. Stable à +2°C/+8°C pendant 14 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à -20 °C.
L2KHC2: 1 flacon.

Contrôles Anti-HBc (LHCC1, LHCC2, LHCC3)
Trois flacons (4 ml chacun). **LHCC1 (Contrôle négatif):** sérum humain non réactif pour l'HBcAg, avec conservateur. **LHCC2, LHCC3 (Contrôle positif faible, Contrôle positif) :** sérum humain réactif pour l'HBcAg, avec conservateur. Stables à +2°C/+8°C pendant 14 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KHC2: 1 jeu.

Pour connaître la valeur en ratio du contrôle en cours, veuillez vous reporter à la notice d'emploi du contrôle.

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes 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 à essai.

Protocole de dosage

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

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

Intervalle d'ajustement : 4 semaines.

Contrôles de qualité : Les contrôles fournis dans le coffret doivent être utilisés comme contrôle de qualité, pour assurer le suivi des performances du dosage.

Pour connaître l'intervalle acceptable pour les contrôles en cours, se référer à la fiche technique des contrôles.

Résultats : Le seuil du dosage est déterminé avec des échantillons représentatifs afin d'obtenir la sensibilité et la spécificité optimales pour le dosage.

Le seuil est défini comme le nombre moyen de coups par seconde (cps) de l'ajusteur (provenant de l'ajustement le plus récent) multiplié par le Paramètre n° 1. (Voir les champs « Ajusteur bas » et « Paramètre 1 » de l'écran « Coffret ».)

Le calcul du rapport Seuil/Signal utilise l'équation suivante :

$$\text{Rapport} = \frac{\text{CPS moyen ajusteur x P1}}{\text{CPS échantillon ou contrôle}}$$

Les résultats qualitatifs (réactif, non-réactif, indéterminé) ou les rapports sont automatiquement calculés par l'IMMULITE 2000.

Le résultat d'un échantillon est "indéterminé" si le nombre de coups par seconde pour cet échantillon se situe à ±15 % du seuil. Le résultat est "réactif" si le nombre de coups par seconde pour cet échantillon est inférieur à l'intervalle "indéterminé" et "non-réactif" s'il est supérieur à cet intervalle.

Interprétation des résultats

- Un résultat « **Réactif** » (rapport seuil/signal ≥ 1,15) indique que des anticorps anti-HBc ont été détectés dans l'échantillon, ce qui témoigne soit d'une infection en cours, soit d'une infection antérieure.
- Un résultat « **non-réactif** » (rapport seuil/signal < 0,85) indique que des anticorps anti-HBc n'ont pas été détectés dans l'échantillon.
- Tout échantillon « **indéterminé** » (rapport seuil/signal entre 0,85 et 1,15) devra faire l'objet d'un nouveau test. Les échantillons qui demeureraient « indéterminés » devront être testés par une autre méthode ou un autre prélèvement devra être effectué – si possible – dans un délai raisonnable (une semaine, par exemple).

Les résultats adressés par le laboratoire au médecin devront comporter la mention suivante : « Les résultats suivants ont été obtenus avec le dosage IMMULITE 2000 Anti-HBc. Les résultats obtenus avec d'autres procédés de dosage du marché ne doivent pas y être substitués. »

Valeurs de référence

Les individus atteints d'une infection aiguë par le virus de l'hépatite B auront des anticorps anti-HBc dans les deux semaines à quatre mois suivant la contamination, habituellement pendant la durée clinique.[4] Ces anticorps persistent durand toute la vie.

Limites

Le dosage de l'anti HBc peut être affecté par la présence de taux élevés d'albumine humaine.

Les résultats du test doivent impérativement être interprétés selon le contexte clinique du patient, un antécédent de vaccination, la symptomatologie et d'autres données de laboratoire.

Un résultat non-réactif n'indique pas que le patient n'est pas infecté par l'HBV. L'échantillon devra être testé pour d'autres marqueurs sérologiques, comme l'antigène HBs ou les IgM anti-HBc.

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 de ce test. Les résultats sont exprimés en rapport Seuil/Signal. (En l'absence d'indication contraire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques recueillis sur tubes, sans gel ni activateur de la coagulation).

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

Bilirubine : La présence non conjuguée n'a aucun effet sur le dosage ni sur sa précision si la concentration ne dépasse pas 400 mg/l.

Biotine : Les échantillons contenant de la biotine à une concentration de 5 ng/ml présentent un changement de résultats inférieur ou égal à 10 %. Les concentrations de biotine supérieures à cela peuvent donner des résultats faussement bas pour les échantillons des patients.

Les résultats des patients prenant des compléments de biotine ou recevant un traitement de biotine à haute dose doivent être interprétés avec précaution en raison d'une interférence possible avec ce test.

Hémolyse : La présence d'hémoglobine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 504 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.

Autres types d'échantillons : Du sang a été prélevé chez 57 volontaires sur tubes vacutainer secs, héparinés, citratés ou EDTA, puis chargé d'anti-HBc et dosé avec le test IMMULITE 2000 anti-HBc. Les résultats sont exprimés en rapport Seuil/Signal.

(Héparine) = 0,98 (Sérum) + 0,018
r = 0,99

(Citrate) = 1,07 (Sérum) + 0,027
r = 0,94

(EDTA) = 0,97 (Sérum) + 0,031
r = 0,99

Moyennes :
0,255 (Sérum)
0,269 (Héparine)
0,301 (Citrate)
0,280 (EDTA)

Comparaison de méthodes 1 : le test a été comparé au test IMMULITE Anti-HBc sur 139 échantillons:

	IMMULITE 2000			
IML	Réact	Non-réact	Sensibilité Relative	Spécificité Relative
Réactif	60	0	100%	98,7%
Non-réactif	1	78		

Concordance: 99,3%

Comparaison de méthodes 2 : Le test IMMULITE 2000 Anti-HBc a été comparé au test Elecsys Anti-HBc sur 2 219 échantillons, comprenant des panels de séroconversion, des échantillons pouvant entraîner des réactions croisées, des échantillons de patients en phase aiguë, phase chronique et en voie de guérison d'infection par HBV, des donneurs de sang, des patients hospitalisés et des échantillons tout venant. Le tableau ci-dessous présente les résultats de cette étude.

	Nbre d'échantillons					
	anti-HBc Réactif	anti-HBc Non-réactif	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
IMMULITE 2000 Anti-HBc						
Réactif	263	1	98,9%	99,9%	99,6%	99,8%
Non-réactif	3	1 953				
Elecsys Anti-HBc						
Réactif	266	9	100%	99,5%	96,7%	100%
Non-réactif	0	1 944				

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

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

Italiano

IMMULITE 2000 Anti-HBc

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE 2000 — per la determinazione qualitativa degli anticorpi totali anti-Antigene Core dell'Epatite B (HBcAg) nel siero umano o plasma umano (eparinizzato, citrato di sodio o EDTA), quale ausilio nella determinazione dello stato immunitario precedente al virus dell'Epatite B.

Codice: **L2KHC2** (200 test)

Codice del Test: **aBC**
Colore: **Grigio chiaro**

Riassunto e Spiegazione del Test

Il virus dell'Epatite B (HBV) è l'unico patogeno umano nella famiglia dei virus a DNA associati all'Epatite, ed ha diffusione mondiale. La distribuzione dell'infezione HBV varia a seconda della zona geografica e del ceppo di popolazione. Il virus viene contratto per via parenterale, attraverso scambio di sangue o di prodotti da esso derivati, attraverso rapporti sessuali, e con trasmissione perinatale dalla madre al neonato.[1,2] Le manifestazioni cliniche variano da infezioni asintomatiche lievi all'Epatite fulminante grave.[1,2,3] Più del 90% degli adulti infettati presentano un'infezione acuta auto-limitante [1] con itterizia ed una funzionalità epatica alterata. Il recupero avviene senza sequele croniche.[1,2]

La malattia cronica del fegato, una condizione in cui l'infezione persiste per più di sei mesi, una sequela dell'infezione da virus dell'Epatite B, è spesso progressiva.[1,2] E' molto più probabile che il rischio di sviluppare lo stato di portatore cronico segua l'infezione contratta in gioventù più che l'infezione contratta da adulti.[4,5] Nei portatori cronici di HBV non è stata rilevata continuità del danno epatico;[1,2] comunque, l'infezione persiste ed il portatore mantiene la capacità di trasmettere il virus.[2]

La disponibilità dei vaccini HBV ricombinanti ed il consiglio di procedere ad una immunizzazione universale per i neonati ha aiutato nella prevenzione delle infezioni da HBV. Inoltre, è disponibile la terapia con alfa-interferone che allevia i sintomi. I risultati hanno dimostrato una risposta positiva al trattamento nel 40–50% degli individui con Epatite B cronica attiva.[4,5]

La classificazione del tipo di infezione da Epatite B richiede l'identificazione di alcuni marcatori sierologici espressi durante tre fasi (incubazione, fase acuta, e convalescenza) dell'infezione. Il primo marcatore ad apparire durante la fase d'incubazione è l'HBsAg, ed indica un'infezione da HBV.[1,2,4] L'anti-HBc appare poco dopo la comparsa dell'HBsAg e raggiunge il picco durante la fase acuta prima della comparsa dell'anti-HBs. Gli anticorpi IgM anti-Antigene Core diminuiscono nei casi d'infezione acuta non complicata, mentre gli anticorpi IgG persistono per anni.[4,5] L'anti-HBc si presenta elevato anche nelle infezioni HBV croniche.[4]

La presenza dell'anti-HBc indica un'infezione HBV persistente o precedente. Quando viene utilizzato in combinazione a dosaggi di altri marcatori HBV sierologici, è possibile diagnosticare l'epatite virale.

Principio del Dosaggio

IMMULITE 2000 Anti-HBc è un Immunodosaggio in chemiluminescenza a due fasi, in fase solida.

Cicli d'incubazione: 2 × 30 minuti.

Prelievo 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; in questo caso, 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 Anti-HBc non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume richiesto: 50 µL di siero o plasma (eparinizzato, citrato di sodio o EDTA).

Conservazione: 3 giorni a 2–8°C.[6] Per una conservazione più estesa: a –20°C.[7]

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.



ATTENZIONE! POTENZIALE PERICOLO BIOLOGICO
Contiene materiale di origine umana. Ciascuna donazione di sangue o componenti ematici umani è stata testata con metodi approvati dalla FDA per rilevare la presenza di anticorpi al virus dell'immunodeficienza umana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2), nonché per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e gli anticorpi al virus dell'epatite C (HCV). I risultati del test sono stati negativi (non ripetutamente reattivi). Nessun test offre assicurazione completa che questi o altri agenti infettivi siano assenti; questo materiale va trattato utilizzando le corrette prassi di laboratorio e le precauzioni universali.[8-10]

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale portatore e trasmettitore di agenti patogeni.

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

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

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

Il calibratore, i controlli Anti-HBc positivo basso e Anti-HBc positivo contengono HBcAg il quale è stato inattivato mediante metodi validati e documentati. Comunque, è consigliabile trattarli come se fossero capaci di trasmettere agenti infettivi.

La concentrazione di anti-HBc in un dato campione determinata con dosaggi di diversi produttori può variare in relazione ai diversi metodi utilizzati nel dosaggio ed alla specificità del reagente. I risultati comunicati dal laboratorio al medico devono includere quanto segue: “I seguenti risultati sono stati ottenuti con il dosaggio IMMULITE 2000 Anti-HBc. I valori ottenuti con metodi utilizzati nei dosaggi di produttori diversi non possono essere interscambiati."

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

Contenitore di Sferette Anti-HBc (L2HC12)
Con codice a barre. 200 biglie coattate con HBcAg ricombinante purificato. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KHC2: 1 Confezione.

Porta Reagente Anti-HBc (L2HCA2)
Con codice a barre. 11,5 mL di un tampone a base proteica, con conservanti. 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con un anticorpo monoclonale murino anti-HBc purificato in un tampone, con conservanti. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KHC2: 1 Porta Reagente.

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.

Calibratori Anti-HBc (LHCR)
2 mL di siero umano reattivo all'HBcAg in un tampone, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 14 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KHC2: 1 flacone.

Controlli Anti-HBc (LHCC1, LHCC2, LHCC3)
Tre flaconi ciascuno con 4 mL. **LHCC1 (Controllo negativo):** siero umano non reattivo all'HBcAg, con conservanti.
LHCC2, LHCC3 (Controllo basso positivo, Controllo positivo): siero umano reattivo all'HBcAg, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 14 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KHC2: 1 set.

Per le gamme attuali del rapporto di controllo, fare riferimento all'inserimento informativo del controllo.

Prima di eseguire i calibratori o i controlli collocare le etichette giuste sulle provette delle aliquote (fornite col kit) cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore sull'IMMULITE 2000.

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 ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

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

Intervallo di Calibrazione: 4 settimane.

Campioni per il controllo di qualità: Si consiglia di utilizzare il controllo come materiale per il controllo di qualità al fine di monitorare le prestazioni del dosaggio.

Per i range del controllo, fare riferimento alla metodica del controllo.

Calcolo del Rapporto Cutoff – CO/S: Il Cutoff Master del dosaggio è stato determinato da campioni rappresentativi per raggiungere una sensibilità ed una specificità ottimali per il dosaggio.

Il valore di cutoff viene settato uguale alla media dei cps del Calibratore (dalla calibrazione più recente), moltiplicato per il Parametro 1 della Curva (Vedi “Adjustor CPS” e “Curve Parameter 1” sulla videata informativa del kit IMMULITE 2000 accessibile dal menu mediante Data Entry: Kit Entry).

Il calcolo del rapporto cutoff/segnale (co/s) è effettuato utilizzando le seguente formula:

Rapporto CO/S = Cps del Calibratore Medio x P1 : cps del Campione e del Controllo

Il calcolo ed il report dei risultati qualitativi (reattivi / non reattivi / indeterminato) e del rapporto co/s vengono gestiti automaticamente dall'IMMULITE 2000.

Il risultato per un campione è “indeterminato” se i cps del campione rientrano entro ±15% del valore di cutoff. Il risultato è “reattivi” se i cps del campione sono inferiori al range indeterminato, e “non reattivi” se sono superiori al range.

Interpretazione dei risultati

- Un risultato “**Reattivo**” (rapporto co/s ≥ 1,15) indica che il campione del paziente è reattivo e che sono stati rilevati anticorpi anti-HBc nel campione, il che indica un'infezione in atto o precedente.
- Un risultato "**Non reattivo**" (rapporto co/s < 0,85) indica che il campione del paziente non è reattivo e che non sono stati rilevati anticorpi anti-HBc nel campione.
- Il risultato “**Indeterminato**” (rapporto co/s tra 0,85 e <1,15) deve essere ridosato. I campioni che presentano nuovamente un risultato “indeterminato” devono essere ridosati con un metodo alternativo, o deve essere prelevato un secondo campione – se possibile – entro un periodo ragionevole (p.e. una settimana).

I risultati comunicati dal laboratorio al medico devono includere quanto segue: “I seguenti risultati sono stati ottenuti con il dosaggio IMMULITE 2000 anti-HBc EIA. I valori ottenuti con dosaggi di produttori diversi non sono interscambiabili."

Valori Attesi

Individui con infezioni acute da virus dell'Epatite B presenteranno anticorpi anti-HBc da due settimane a quattro mesi dopo l'esposizione, di solito durante la malattia clinica.[4] Il livello anticorpale persiste tutta la vita.

Limiti

La misurazione dell'Anti-HBc può essere influenzata dalla presenza di elevati livelli di albumina umana.

I risultati del dosaggio devono essere considerati nel contesto dell'anamnesi e della sintomatologia del paziente e di altre informazioni fornite dal laboratorio.

Un risultato non reattivi non indica che il paziente non sia stato infettato da HBV. Il campione del paziente deve essere analizzato per la presenza di altri marcatori sierologici, come l'HBsAg o l'anti-HBc IgM.

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi in vitro. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988:34:27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedi tavole e grafici per i dati rappresentativi. I risultati sono espressi come rapporto tra cutoff e segnale. (Laddove non diversamente specificato, tutti i dati sono stati generati su campioni di siero raccolti in provette senza gel separatore o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.)

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

Bilirubina: La presenza di bilirubina non coniugata in concentrazioni fino a 400 mg/L non ha nessun effetto entro il range di precisione del dosaggio.

Biotina: I campioni che contengono biotina a una concentrazione di 5 ng/mL dimostrano una variazione nei risultati inferiore o pari al 10%. Concentrazioni di biotina superiori a questa potrebbero portare a risultati falsamente sottostimati nei campioni dei pazienti.

A causa di possibili interferenze con questo test, i risultati dei pazienti che assumono integratori a base di biotina o una terapia con biotina a dosi elevate devono essere interpretati con attenzione.

Emolisi: La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 504 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.

Tipo di Campione Alternativo: Il sangue è stato prelevato da 57 volontari del laboratorio in provette semplici, eparinizzate, citrato di sodio e vacutainer EDTA, con l'aggiunta d'anti-HBc e poi analizzati con il dosaggio IMMULITE 2000 Anti-HBc. I risultati sono espressi come rapporto cutoff-segnale.

(Eparina) = 0,98 (Siero) + 0,018
r = 0,99

(Citrato di Sodio) = 1,07 (Siero) + 0,027
r = 0,94

(EDTA) = 0,97 (Siero) + 0,031
r = 0,99

Valore Medio:
0,255 (Siero)
0,269 (Eparina)
0,301 (Citrato di Sodio)
0,280 (EDTA)

Comparazione dei Metodi 1: Il dosaggio è stato paragonato all’Anti-HBc IMMULITE su 139 campioni di pazienti.

IMMULITE 2000

IML	Reattivi	Non reattivi	Sensitività Relativa	Specificità Relativa
Reattivi	60	0	100%	98,7%
Non reattivi	1	78		

Correlazione: 99,3%

Comparazione dei Metodi 2: Il kit IMMULITE 2000 Anti-HBc è stato paragonato all'immunodosaggio Elecsys Anti-HBc su 2 219 campioni, costituiti da pannelli di sieroconversione, campioni potenzialmente crossreattivi, campioni provenienti da pazienti affetti da Epatite B (HBV) acuta, cronica o risolta, da donatori di sangue, pazienti ospedalizzati, e da campioni di routine. La tabella di seguito riportata presenta i risultati di questo studio.

	No. di campioni					
	anti-HBc Reattivi	anti-HBc Non reattivi	Sensibil-ità	Specifi-cità	PPV	NPV
IMMULITE 2000 Anti-HBc						
Reattivi	263	1	98,9%	99,9%	99,6%	99,8%
Non reattivi	3	1 953				
Elecsys Anti-HBc						
Reattivi	266	9	100%	99,5%	96,7%	100%
Non reattivi	0	1 944				

Assistenza Tecnica

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

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

Anti-HBc

Utilização: Para diagnósticos *in vitro* com os Analisadores dos Sistemas IMMULITE 2000 — para a medição qualitativa de anticorpos totais contra antígenos núcleo da hepatite B (HBcAg) em soro ou plasma (colhido com heparina, citrato de sódio e EDTA) humano. Como auxiliar na determinação de um estado imune anterior ao vírus da hepatite B.

Números de catálogo: **L2KHC2** (200 testes)

Código do teste: **aBC**
Cor: **Cinzento claro**

Sumário e explicação do teste

O vírus da hepatite B (HBV) é o único patógeno humano na família de vírus DNA associado com a hepatite e é encontrado no mundo inteiro. A distribuição da infecção por HBV varia entre áreas geográficas e grupos da população. A transmissão do vírus é devida ao contacto parentérico através da troca de sangue ou produtos sanguíneos, contacto sexual e propagação perinatal da mãe para o recém-nascido.[1,2] As manifestações clínicas variam de infecções assintomáticas moderadas a hepatites fulminantes severas.[1,2,3] Mais de 90% de adultos infectados terão uma infecção aguda auto-limitante,[1] com icterícia e função anormal do fígado. A recuperação ocorre sem nenhumas sequelas crónica.[1,2]

A doença crónica do fígado, uma condição na qual a infecção persiste por mais de 6 meses, uma sequela conhecida de uma infecção por hepatite B, é em geral progressiva.[1,2] O risco de desenvolver o estado de portador crónico é mais provável ser no seguimento duma infecção adquirida na infância do que na idade adulta.[4,5] Em portadores de HBV crónicos, não há provas de dano hepático contínuo,[1,3] contudo, a infecção persiste e o portador mantém a capacidade de transmitir o vírus.[2]

A disponibilidade de vacinas HBV recombinantes e a recomendação de imunização universal para recém-nascidos e outras pessoas de alto risco têm auxiliado na prevenção de infecções por HBV. Além disso, o tratamento com alfa-interferon para aliviar sintomas está disponível. Os resultados têm demonstrado respostas positivas para o tratamento em 40–50% de indivíduos seleccionados com hepatite B activa crónica.[4,5]

A classificação de uma infecção por hepatite B requer a identificação de vários marcadores sorológicos expressados durante três fases (incubação, aguda e convalescente) da infecção. O primeiro marcador a surgir durante a fase de incubação é HBsAg, e indica uma infecção contínua com HBV.[1,2,4] o anti-HBC aparece logo depois do surgimento do HBsAg e alcança o máximo durante a fase aguda antes do surgimento do anti-HBS. O anticorpo de IgM para o antígeno núcleo declinará na infecção aguda não complicada, enquanto o anticorpo de IgG persistirá durante anos.[4,5] Anti-HBc é também elevado nas infecções crónicas por HBV.[4]

A presença de anti-HBc indica uma infecção contínua ou anterior por HBV. Quando usada em conjunto com testes para outros marcadores sorológicos HBV, pode ser obtido um diagnóstico de hepatite viral.

Princípio do procedimento

IMMULITE 2000 Anti-HBc é um Immunoensaio em dois passos, em fase sólida quimioluminescente.

Ciclos de incubação: 2 × 30 minutos.

Colheita

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

Amostras hemolisadas podem indicar tratamento incorrecto de um espécime 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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 Anti-HBc não foram ainda testados com todas as possiveis 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: 50 µL soro o plasma (colhido com heparina, citrato de sódio e EDTA).

Estabilidade: 3 dias a 2–8°C.[6] Para períodos mais longos de armazenamento: a –20°C.[7]

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.



PRECAUÇÃO! POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO
Contém material de origem humana. Cada dádiva de sangue ou componente de sangue humano foi testada pelos métodos aprovados pela FDA quanto à presença de anticorpos dos vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e tipo 2 (VIH-2), bem como do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e dos anticorpos do vírus da hepatite C (VHC). Os resultados dos testes foram negativos (não repetidamente reativos). Nenhum teste oferece total garantia de que estes ou outros agentes infeciosos estejam ausentes; este material deve ser manuseado de acordo com as boas práticas laboratoriais e precauções universais[8-10].

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as normas aplicadas.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas obtidas de soro humano foram testadas, dando 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.

O Ajuste, os Controlos Positivos de Anti-HBc e Positivos Baixos de Anti-HBc contêm HBcAg que foram inactivados por métodos comprovados e documentados. Contudo, lide sempre com todos os controlos como se fossem capazes de transmitir agentes infecciosos.

A concentração de anti-HBc dum determinado espécime com doseamento de diferentes fabricantes pode variar devido a diferenças em métodos de doseamento e especificidade do reagente. Os resultados enviados pelo laboratório ao médico devem incluir: “Os seguintes resultados foram obtidos com o doseamento de IMMULITE 2000 anti-HBc. Os valores obtidos de métodos de doseamentos de outros fabricantes não podem ser usados em permutação.”

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

Água: Utilize água destilada ou desionizada.

Materiais fornecidos

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

Embalagem de pérolas de Anti-HBc (L2HC12)
Com código de barras. 200 pérolas revestidas com HBcAg recombinante purificado. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KHC2: 1 embalagem.

Embalagem de Reagente de Anti-HBc (L2HCA2)
Com código de barras. 11,5 ml de um tampão baseado em proteína, com conservante. 11,5 ml de fosfatase alcalina (intestino de bezerro) conjugada com anti-HBc monoclonal murino tamponizado, com conservante. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KHC2: 1 embalagem.

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.

Ajuste Anti-HBc (LHCR)
2 mL de soro humano reactivo a HBcAg tamponizado, com conservante. Estável, após a abertura, durante 14 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KHC2: 1 frasco.

Controlos de Anti-HBc (LHCC1, LHCC2, LHCC3)
Contém Três frascos cada un contendo 4 mL. **LHCC1 (Controlo Negativo):** soro humano não reactivo a HBcAg, com conservante. **LHCC2, LHCC3 (Controlo Positivo Baixo, Controlo Positivo):** soro humano reactivo a HBcAg, com conservante. Estável, após a abertura, durante 14 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KHC2: 1 conjunto.

Para os valores actuais de proporção de controlo, consulte o folheto incluso de Controlo.

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

Componentes do kit fornecidos separadamente

L2SUBM: Substrato quiomioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Kit de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)

Também necessário
Pipetas de transferência de amostra; água destilada ou desionizada.

Procedimento de doseamento

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

Consultar o Manual do Operador dos sistemas IMMULITE 2000 relativamente às instruções de preparação, instalação, rectificação, ensaio e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes: 4 semanas.

Amostras de controlo de qualidade: O Módulo de Controlo deve ser utilizado como material de controlo de qualidade para monitorizar o desempenho de doseamentos.

Para os valores actuais de proporção de controlo, consulte o folheto incluso de Controlo.

Calculo do Cutoff e da razão CO/ Amostra: O Cutoff do ensaio foi determinado a partir de amostras representativas de modo a obter-se uma sensibilidade e especificidade óptima.

O valor do Cutoff é igual à média das contagens por segundo (média de cps) do Ajuste (do ajuste mais recente) multiplicado pelo parâmetro 1 da curva. (Veja os campos “CPS do Ajuste Baixo” e “Parâmetro 1 da Curva ” no ecrã de Informação do kit IMMULITE 2000, a que pode aceder-se no menu pela Entrada de Dados: Entrada do Kit)

O calculo da razão sinal da CO/amostra é feita usando a seguinte fórmula:

$$\text{Razão CO/S} = \frac{\text{Cps da média do Ajuste} \times \text{P1}}{\text{Cps das amostras ou controlos}}$$

Os cálculos qualitativos (reactivo / não reactivo /indeterminados) e a razão CO/S são efectuados automáticamente pelo IMMULITE 2000.

O resultado da amostra é “indeterminado” se os CPS da amostra estiverem no intervalo de ±15% do cutoff. O resultado é “reactivo” se os CPS da amostra forem inferiores ao intervalo em que se considera indeterminado, e “não reactivo” se forem superiores.

Interpretação dos Resultados

- Um resultado "**Reactivo**" (razão co/s ≥ 1,15) indica que a amostra do doente é reactiva e que anticorpos anti-HBc foram detectados na amotra, indicando uma infecção actual ou prévia.
- Um resultado "**Não reactivo**" (razão co/s < 0,85) indica que a amostra do doente não é reactiva e não foram detectados anticorpos anti-HBc na amostra.
- Todos os resultados "**Indeterminados**" (razão co/s entre 0,85 e 1,15) devem ser testados novamente. Amostras que continuem "Indeterminadas" devem ser testadas por um método alternativo ou deve-se colher uma segunda amostra – se possivel – num período de tempo razoavel (p.e. uma semana).

Os resultados enviados pelo laboratório ao médico devem incluir: "Os seguintes resultados foram obtidos com o doseamento de IMMULITE 2000 anti-HBc. Os valores obtidos de métodos de doseamentos de outros fabricantes não podem ser usados em permutação."

Valores de Referência

Indivíduos portadores de infecção aguda com o vírus da hepatite B apresentarão anti-HBc entre duas semanas e quatro semanas após a exposição, normalmente o curso da doença clínica.[4] O nivel de anticorpos persiste toda a vida.

Limitações

O doseamento do Anti-HBc pode ser afectado pela presença de níveis elevados de albumina humana.

Os resultados do teste devem ser tirados dentro do contexto da história clínica do paciente, sintomatologia e outros achados de laboratório.

Um resultado não reactivo não indica que o paciente não foi infectado com HBV: a amostra do paciente deve ser testada quanto à presença de outros marcadores sorológicos, como HbsAg ou anti-HBc IgM.

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 apresentados pela razão Cutoff-sinal da amostra. 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.

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

Bilirrubina: A presença de bilirubina não conjugada em concentrações até 400 mg/L não tem efeito no procedimento dentro da precisão do ensaio.

Biotina: As amostras que contenham biotina a uma concentração de 5 ng/mL demonstram uma alteração igual ou inferior a 10% nos resultados. Concentrações de biotina superiores a esta poderão originar resultados falsamente diminuídos para as amostras de doentes.

Os resultados de doentes que tomem suplementos de biotina ou recebam terapêutica de biotina em doses elevadas deverão ser interpretados com cuidado devido a possíveis interferências com este teste.

Hemolise: A presença de hemoglobina em concentrações até 504 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

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

Tipo de amostra alternativa: As amostras (n=57) foram extraídas para tubos de contenção a vácuo EDTA, heparinizados, citrato de sódio e simples.Todas as amostras foram adicionadas com anti-HBc e depois doseadas pelo Procedimento de Anti-HBc. Os resultados são apresentados pela razão Cutoff-sinal da amostra.

(Heparin) = 0,98 (Soro) + 0,018
r = 0,99

(Citrato de sódio) = 1,07 (Soro) + 0,027
r = 0,94

(EDTA) = 0,97 (Soro) + 0,031
r = 0,99

Médias:
0,255 (Soro)
0,269 (Heparin)
0,301 (Citrato de sódio)
0,280 (EDTA)

Comparação de Métodos 1: O doseamento foi comparado ao HBcAB IMMULITE em 139 amostras de doentes.

	IMMULITE 2000			
IML	React.	Não react.	Sensibilidade relativa	Especificidade
Reactivo	60	0	100%	98,7%
Não reactivo	1	78		

Correlacção: 99,3%

Comparação de Métodos 2:
O IMMULITE 2000 Anti-HBc foi comparado com o imunoensaio Elecsys Anti-HBc em 2 219 amostras, que incluiam paineis de seroconversão, amostras capazes de provocar reacções cruzadas, amostras de doentes com infecção por HBV na fase aguda, crónica e passada,de dadores de sangue, doentes hospitalizados e amostras de rotina. A tabela seguinte mostra os resultados deste estudo.

	No. de Amostras					
	anti-HBc Reactivo	anti-HBc Não reactivo	Sensibilidade	Especificidade	PPV	NPV
IMMULITE 2000 Anti-HBc						
Reactivo	263	1	98,9%	99,9%	99,6%	99,8%
Não reactivo	3	1 953				
Elecsys Anti-HBc						
Reactivo	266	9	100%	99,5%	96,7%	100%
Não reactivo	0	1 944				

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE® is a trademark of Siemens Healthcare Diagnostics.

©2008-2020 Siemens Healthcare Diagnostics Inc. All rights reserved.

Made in: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

CE 0197

2020-09-14

PIL2KHC – 40

cc#CC-00216-LLB

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol Definition



En: In vitro diagnostic medical device
De: Medizinisches Gerät zur In-vitro Diagnose
Es: Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
Fr: Dispositif médical de diagnostic in vitro
It: Dispositivo medico per diagnostica in vitro
Pt: Dispositivo médico para diagnóstico in vitro



En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo



En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante



En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia

Symbol Definition



En: CE Mark
De: CE-Kennzeichen
Es: Marca CE
Fr: Marque CE
It: Marchio CE
Pt: Marca CE



En: CE Mark with identification number of notified body
De: CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle
Es: Marca CE con número de identificación del organismo notificado
Fr: Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié
It: Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato
Pt: Marca CE, com número de identificação do organismo notificado



En: Consult instructions for use
De: Bedienungshinweise beachten
Es: Consulte las instrucciones de uso
Fr: Consulter le mode d'emploi
It: Consultare le istruzioni per l'uso
Pt: Consulte as instruções de utilização

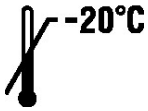


En: Caution! Potential Biohazard
De: Vorsicht! Biologisches Risikomaterial
Es: ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial
Fr: Avertissement ! Risque biologique potentiel
It: Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico
Pt: Atenção! Potenciais Riscos Biológicos



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

Symbol Definition



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



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



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



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



En: Keep away from sunlight
De: Vor Sonneneinstrahlung schützen
Es: Proteger de la luz solar
Fr: Maintenir hors de portée de la lumière du soleil
It: Non esporre alla luce del sole
Pt: Manter afastado da luz solar



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

Symbol Definition



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

2008-01

En: Date format (year-month)
De: Datumsformat (Jahr-Monat)
Es: Formato de fecha (año-mes)
Fr: Format de la date (année-mois)
It: Formato data (anno-mese)
Pt: Formato de data (ano-mês)



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



En: Health Hazard
De: Gesundheitsgefährdung
Es: Peligro para la salud
Fr: Dangereux pour la santé
It: Pericolo per la salute
Pt: Perigo para a saúde



En: Exclamation Mark
De: Ausrufezeichen
Es: Signo de exclamación
Fr: Point d'exclamation
It: Punto esclamativo
Pt: Ponto de exclamação



En: Corrosion
De: Korrosion
Es: Corrosión
Fr: Corrosion
It: Corrosione
Pt: Corrosão



En: Skull and Crossbones
De: Totenkopf mit gekreuzten Knochen
Es: Calavera y tibias cruzadas
Fr: Tête de mort sur tibias croisés
It: Teschio e tibie incrociate
Pt: Caveira sobre tíbias cruzadas



En: Environment
De: Umwelt
Es: Medio ambiente
Fr: Environnement
It: Ambiente
Pt: Ambiente

Symbol	Definition
BEAD PACK	**En:** Bead Pack **De:** Kugel-Container **Es:** Cartucho de bolas **Fr:** Cartouche de billes **It:** Contenitore di biglie **Pt:** Embalagem de esferas
TEST UNIT	**En:** Test Unit **De:** Testeinheit **Es:** Unidades de análisis **Fr:** Unité de test **It:** Test Unit **Pt:** Unidades de Teste
REAG WEDGE REAG WEDGE A REAG WEDGE B REAG WEDGE D	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste

Symbol	Definition
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL CONTROL 1 CONTROL 2 CONTROL 3	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo

Symbol Definition

PRE A **PRE B**	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

Anti-HBs

For the Quantitative Measurement of Antibodies to Hepatitis B Surface Antigen in Human Serum

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 Anti-HBs

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the quantitative measurement of *antibodies against hepatitis B surface antigen* (Anti-HBs) in human serum or plasma (heparinized or EDTA), as an aid in the determination of immune status to the hepatitis B virus.

Catalog Number: **L2KAH2** (200 tests)

Test Code: **aHB** Color: **Dark Pink**

Summary and Explanation

Hepatitis B virus (HBV) is the sole human pathogen in the family of hepatitis-associated DNA viruses, and is found world-wide. Distribution of HBV infection will vary among geographical areas and population groups. Transmission of the virus is due to parenteral contact, through the exchange of blood or blood products, sexual contact, and perinatal spread from mother to newborn.[1,2] Clinical manifestations range from mild asymptomatic infections to severe fulminant hepatitis.[1,2,3] Over 90% of infected adults will have an acute self-limiting infection,[1] with jaundice and abnormal liver function. Recovery occurs without any chronic sequelae.[1,2]

Chronic liver disease, a condition in which infection persists for more than six months, a known sequela of a hepatitis B infection, is usually progressive.[1,2] The risk of developing the chronic carrier state is more likely to follow infection acquired in childhood than as an adult.[4,5] In chronic HBV carriers, there is no evidence of continued hepatic damage,[1,2] however, the infection persists and the carrier maintains the ability to transmit the virus.[2]

Availability of recombinant HBV vaccines, and the recommendation of universal immunization for infants and other high-risk persons has aided in the prevention of HBV infections. In addition, treatment with alpha-interferon to relieve symptoms is available. Results have shown positive response to treatment in 40–50% of selected individuals with chronic active hepatitis B.[4,5]

Classification of a hepatitis B infection requires the identification of several serological markers expressed during three phases (incubation, acute and convalescent) of the infection. The first marker to appear during the incubation phase is HBsAg, and indicates an ongoing infection with HBV.[1,2,4] Antibodies to HBsAg generally appear after HBsAg has been cleared from the blood stream, usually 6 months after infection, and its presence represents recovery and immunity. However, in a few patients known to have antibodies to HBsAg, subclinical infections have developed.[5] The presence of HBsAg antibodies should not be used as the sole marker in determining a prior hepatitis B infection.

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 Anti-HBs is a solid-phase, two-step chemiluminescent enzyme immunoassay.

The solid phase, a polystyrene bead, is coated with purified HBsAg subtypes ad and ay. An alkaline phosphatase-labeled HBsAg, supplied in the reagent, is added to the polystyrene bead. Unbound enzyme conjugate is then removed by a centrifugal wash. Finally, chemiluminescent substrate is added and undergoes hydrolysis in the presence of alkaline phosphatase; the photon output, as measured by the luminometer, is related to the presence of antibodies to HBsAg in the sample.

Incubation Cycles: 2 × 30 minutes

Specimen Collection

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

Hemolyzed samples should not be used in this assay.

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 Anti-HBs 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: 50 µL serum or plasma (heparinized or EDTA). (See Alternate Sample Types section.)

Storage: 3 days at 2–8°C.[6]
For longer storage: at –20°C.[7]

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.



CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD
Contains human source material. Each donation of human blood or blood component was tested by FDA-approved methods for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) as well as for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis C virus (HCV). The test results were negative (not repeatedly reactive). No test offers complete assurance that these or other infectious agents are absent; this material should be handled using good laboratory practices and universal precautions.[8-10]

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.

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.

Certain components contain HBsAg which has been inactivated by proven, documented methods. However, always handle them as if capable of transmitting infectious agents.

The concentration of anti-hepatitis B surface antigen in a given specimen determined with assays from different manufacturers can vary due to differences in assay methods and reagent specificity. Therefore, the results reported by the laboratory to the physician should include: "The following results were obtained with the IMMULITE 2000 Anti-HBs EIA. Results obtained from other manufacturers' assay methods may not be used interchangeably."

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.

Anti-HBs Bead Pack (L2AH12)
With barcode. 200 beads coated with purified inactivated human HBsAg subtypes ad and ay. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KAH2: 1 Pack

Anti-HBs Reagent Wedge (L2AHA2)
With barcode. 11.5 mL of a protein-based buffer, with preservative. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to purified inactivated human HBsAg subtypes ad and ay in buffer, with preservative. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KAH2: 1 Wedge

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

Anti-HBs Adjustors (LAHL, LAHH)
Two vials (Low and High), 2 mL each, of human serum reactive to HBsAg in a buffer, with preservative. Stable at 2–8°C for 14 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KAH2: 1 set

Anti-HBs Controls (LAHC1, LAHC2, LAHC3)
Three vials, 4 mL each, with barcodes. **LAHC1 (Negative Control):** One vial containing human serum nonreactive to HBsAg, with preservative. **LAHC2, LAHC3 (Low Postive Control, Positive Control):** Two vials containing human serum reactive to HBsAg, with preservative. Stable at 2–8°C for 14 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KAH2: 1 set

Refer to the control insert for concentration levels.

Aliquot Labels with barcodes are supplied with the kit, for use with Adjustors and Controls. Before use, 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 Systems Operator's Manual.

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

Adjustment Interval: 4 weeks

Quality Control Samples: The Controls supplied with the kit should be used as quality control material to monitor assay performance.

Interpretation of Results

The IMMULITE 2000 Anti-HBs calibration employs a stored master curve, generated by the four-parameter logistic mathematical model based on the dose-CPS (counts per second) relationship during the calibration process.

Reactive: A result of greater than or equal to 10 mIU/mL (WHO 1st IRP 26-1-77) indicates that antibodies to HBsAg are present and were detected in the patient sample. In vaccinated individuals this usually indicates protection against infection.

Nonreactive: A result of less than 10 mIU/mL indicates that antibodies to HBsAg were not detected in the patient sample, or are below the protective level for immunity.

The results reported by the laboratory to the physician should include: "The following results were obtained with the IMMULITE 2000 Anti-HBs EIA. Results obtained from other manufacturers' assay methods may not be used interchangeably."

Expected Values

Individuals acutely infected with the hepatitis B virus will exhibit anti-HBs approximately two weeks after the disappearance of HBsAg. This antibody response will reach peak levels after several months and gradually decline over a period of years. Persons who have been vaccinated against HBV will also have detectable levels of anti-HBs.

Limitations

The measurement of Anti-HBs may be affected by the presence of elevated levels of human albumin.

The results of the test must be taken within the context of the patient's clinical and vaccination history, symptomology and other laboratory findings.

Hemolyzed or grossly contaminated samples may give erroneous results.

A nonreactive result does not indicate that the patient was not infected with HBV or was not vaccinated against HBV. The patient sample should be tested for the presence of other serological markers.

Testing for anti-HBs antibodies alone is not sufficient in determining previous infections.

Sodium citrate will affect the measurement of antibodies against hepatitis B surface antigen. Use only serum, EDTA plamsa or heparinized plasma.

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

Calibration Range: 3–2000 mIU/mL (WHO 1st IRP 26-1-77)

Analytical Sensitivity: ≤ 3.0 mIU/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.)

Bilirubin: Presence of unconjugated bilirubin in concentrations up to 400 mg/L has no effect on results, within the precision of the assay.

Hemolysis: May interfere with the assay causing inconsistent or erroneous results. (See “Hemolysis” table.)

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 3000 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Alternate Sample Type: Samples (n = 46) were collected into plain, heparinized and EDTA vacutainer tubes.

(Heparin) = 1.03 (Serum) + 14 mIU/mL
r = 0.97

(EDTA) = 1.05 (Serum) + 16 mIU/mL
r = 0.88

Means:
350 mIU/mL (Serum)
376 mIU/mL (Heparin)
384 mIU/mL (EDTA)

Method Comparison 1: The IMMULITE 2000 Anti-HBs procedure was compared to IMMULITE Anti-HBs Kit on 59 patient samples. (Concentration Range: approximately 3–2000 mIU/mL. See “Method Comparison 1” graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 1.00 (IML) – 3.4 mIU/mL
r = 0.993

Means:
343 mIU/mL (IMMULITE 2000)
346 mIU/mL (IMMULITE)

Method Comparison 2: The IMMULITE 2000 Anti-HBs procedure was compared to the Elecsys Anti-HBs immunoassay on 775 samples, consisting of seroconversion panels, potentially crossreactive samples, samples from patients with resolved HBV infection, from vaccinated individuals and hospitalized patients, and routine samples. The table below presents the results of this study.

	No. of samples					
	anti-HBs reactive	anti-HBs non-reactive	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
IMMULITE 2000 Anti-HBs						
Reactive	386	1				
Non-reactive	2	386	99.5%	99.7%	99.7%	99.5%
Elecsys Anti-HBs						
Reactive	383	5				
Non-reactive	4	383	99.0%	98.7%	98.7%	99.0%

References

1) Locarnini SA, Gust ID. Hepadnaviridae: hepatitis B virus and the delta virus. In: Balows A, et al, editors. Laboratory diagnosis of infectious diseases: principles and practices. New York: Springer-Verlag, 1988: 750-96.
2) Follett EAC. Diagnosis of hepatitis B infection. In: Young H, McMillan A, editors. Immunological

diagnosis of sexually transmitted diseases. New York: Marcel Dekker, 1988: 433-49. 3) Hollinger FB, Dienstag JL. Hepatitis B and D viruses. In: Lennette EH, et al, editors. Manual of clinical microbiology. 6th ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1995:1033-49. 4) Nowicki MJ, Balistreri WF. Hepatitis A to E: building up the alphabet. Contemporary Peds 1992: 118-28. 5) Zuckerman AJ, et al. Hepatitis B virus and hepatitis D virus. In: Principles and practice of clinical virology. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 1992: 153-72. 6) Tietz NW, editor. Clinical guide to laboratory tests. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1995:354-60. 7) Tietz NW, editor. Clinical guide to laboratory tests. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1995:322-4. 8) Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. MMWR, 1988;37:377–82, 387–8. 9) Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3. 10) Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030.

Technical Assistance

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

siemens.com/healthcare

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

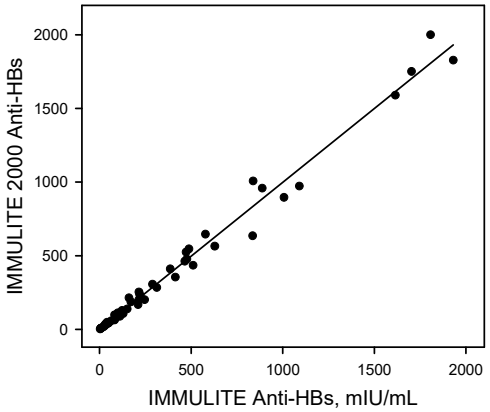
Precision (mIU/mL)

		Intraassay[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	7.46	0.44	5.9%	0.74	9.9%
2	8.75	0.41	4.7%	0.72	8.2%
3	14.6	0.55	3.8%	1.16	7.9%
4	70	4.19	6.0%	5.36	7.7%
5	126	4.45	3.5%	7.09	5.6%
6	451	29.1	6.5%	40	9.0%
7	854	27.0	3.2%	47	5.6%

Hemolysis

	Amount[1] Added 168 mg/dL		Amount Added 252 mg/dL		Amount Added 504 mg/dL	
	Exp[2]	Obs[3]	Exp	Obs	Exp	Obs
1	< 3.0	9.23	< 3.0	8.59	< 3.0	11.8
2	18.2	20.4	18.1	22.0	17.8	27.2
3	74	90	73	89	72	97
4	661	695	658	725	648	707
5	1823	1678	1814	1769	1787	1797

Method Comparison 1



(IML 2000) = 1.00 (IML) – 3.4 mIU/mL
r = 0.993

Deutsch. **Precision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]S (Standardabweichung), [5]CV (Variationskoeffizient). **Hemolysis:** [1]zugesetzte. [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E). **Method Comparison**: Anti-HBs: Anti-HBs.

Español. **Precision**: [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV. **Hemolysis:** [1]Cantidad añadida, [2]Observado (O), [3]Esperado(E). **Method Comparison**: Anti-HBs: Anti-HBs.

Français. **Precision**: [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]SD, [5]CV. **Hemolysis:** [1]ajouté, [2]Observé (O), [3]Attendu (A). **Method Comparison**: Anti-HBs: Anti-HBs.

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione). **Hemolysis:** [1]quantità aggiunta, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A). **Method Comparison**: Anti-HBs: Anti-HBs.

Português. **Precision**: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação. **Hemolysis:** [1]quantità aggiunta, [2]Observado (O), [3]Esperado (E). **Method Comparison**: Anti-HBs: Anti-HBs.

Deutsch

Anti-HBs

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme — zur quantitativen Bestimmung der *Antikörper gegen das Hepatitis-B-Oberflächenantigen* (Anti-HBs) in Humanserum bzw. -plasma (Heparin oder EDTA), als Hilfestellung zur Ermittlung eines Immunstatus gegen das Hepatitis-B-Virus.

Artikelnummern: **L2KAH2** (200 Tests)

Testcode: **aHB** Farbe: **dunkelrosa**

Klinische Relevanz

Das Hepatitis-B-Virus (HBV) ist weltweit anzutreffen. Es ist das einzige Hepatitis-assoziierte DNS-Virus, das den Menschen infiziert. Die Verteilung der HBV-Infektionen variiert nach geografischen Regionen und Bevölkerungsgruppen. Übertragen wird das Virus durch parenteralen Kontakt, den Austausch von Blut bzw. Blutprodukten, sexuellen Kontakt und perinatale Übertragung von der Mutter auf das Neugeborene.[1,2] Die klinischen Manifestationen reichen von leichten beschwerdefreien Infektionen bis hin zu schwerer fulminanter Hepatitis.[1,2,3] Mehr als 90% aller infizierten Erwachsenen erkranken an einer akuten ausheilenden Infektion[1] mit Gelbsucht und Leberfunktionsstörungen. Diese Patienten erholen sich ohne chronische Folgekrankheiten.[1,2]

Chronische Lebererkrankungen, bei denen die Infektion mehr als sechs Monate lang anhält, sind eine bekannte und üblicherweise progrediente Folgeerscheinung von Hepatitis-B-Infektionen.[1,2] Das Risiko, zu einem chronischen Träger zu werden, ist nach Infektionen im Kindesalter höher als bei Erwachsenen.[4,5] Chronische HBV-Träger zeigen keine fortwährenden Leberschäden[1,2], die Infektion ist jedoch präsent und eine Übertragung des Virus möglich.[2]

Durch die Verfügbarkeit von rekombinanten HBV-Impfstoffen sowie die allgemeine Impfempfehlung bei Kleinkindern und anderen Risikogruppen ist heute eine bessere Prophylaxe für HBV-Infektionen gegeben. Hinzu kommt die Möglichkeit einer symptomatischen Behandlung mit α-Interferon. Es konnte gezeigt werden, dass bei 40–50 % der Patienten mit aktiver chronischer Hepatitis-B ein positives Ansprechen auf die Behandlung zu erwarten ist.[4,5]

Um eine Hepatitis-B-Infektion einordnen zu können, ist die Auswertung von diversen in den drei verschiedenen Infektionsphasen (Inkubations-, Akut- und Rekonvaleszenzphase) exprimierten serologischen Markern erforderlich. Der erste, in der Inkubationsphase auftretende Marker ist HBsAg. Er weist auf ein aktuelles HBV-Infektionsgeschehen hin.[1,2,4] Antikörper gegen HBsAg erscheinen im allgemeinen sechs Monate nach der Infektion, nachdem HBsAg aus der Blutbahn eliminiert worden sind, sodass sie einen Indikator für Erholung und Immunität darstellen. Manche Patienten, die erwiesenermaßen Antikörper gegen HBsAg tragen, zeigen subklinische Infektionen.[5] Das Vorhandensein von HBsAg-Antikörpern sollte nicht als einziger Marker zur Ermittlung einer früheren Hepatitis-B-Infektion herangezogen werden.

Methodik

IMMULITE 2000 Anti-HBs ist ein Festphasen, 2-Schritt-Chemilumineszenz-Enzymimmunoassay.

Die Festphase, eine Polystyrolkugel, ist mit gereinigtem HBsAg Subtyp „ad“ und „ay“ beschichtet. Mit alkalischer Phosphatase markiertes HBsAg, das im Reagenz vorliegt, wird zur Polystyrolkugel hinzugefügt. Ungebundenes Enzymkonjugat wird anschließend durch einen Zentrifugal-Waschschritt entfernt. Zum Schluss wird Chemilumineszenz-Substrat hinzugegeben und in Anwesenheit von alkalischer Phosphatase einer Hydrolyse unterworfen; die im Luminometer gemessene Photonenfreisetzung steht in direktem Bezug zu den in der Probe vorliegenden anti-HBs-Antikörpern.

Inkubationszyklen: 2 × 30 Minuten

Probengewinnung

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

Hämolysierte Proben sollten für diesen Assay nicht verwendet werden.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter 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 Anti-HBs sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel „Alternative Probenarten“ zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 50 µl Serum oder Plasma (mit Heparin oder EDTA). (Siehe „Alternative Probenarten“.)

Lagerung: 3 Tage bei 2–8°C.[6] Zur längeren Lagerung: bei –20°C.[7]

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *In-vitro*-Diagnostik.



VORSICHT! BIOLOGISCHES RISIKOMATERIAL
Enthält Material humanen Ursprungs. Alle Blutspenden oder Blutkomponenten menschlicher Herkunft wurden nach FDA-genehmigten Methoden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die HI-Viren Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2) sowie von Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und Antikörpern gegen den Hepatitis C-Virus (HCV) getestet. Die Testergebnisse waren negativ (nicht wiederholt reaktiv). Durch keinen Test kann das Vorhandensein dieser oder anderer infektiöser Stoffe vollständig ausgeschlossen werden. Dieses Material ist mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und gemäß der allgemein anerkannten guten Laborpraxis zu handhaben.[8-10]

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.

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

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

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

Bestimmte Komponenten dieses Testsystems enthalten (durch bewährte, belegte Methoden) inaktiviertes HBsAg, sollten aber trotzdem stets so gehandhabt werden, als könnten sie Keime übertragen.

Die vom Labor an den Arzt weitergegebenen Ergebnisse sollten daher den folgenden Passus enthalten: „Die folgenden Ergebnisse wurden mit dem IMMULITE 2000-Testsystem zur Bestimmung von anti-HBs erzielt. Sie sind nicht mit den Ergebnissen der Testsysteme anderer Hersteller austauschbar.“

Chemilumineszenz–Substratmodul: Kontamination und direkte Sonneneinstrahlung vermeiden. (Siehe Packungsbeilage.)

Wasser: Destilliertes oder deionisiertes Wasser verwenden.

Im Lieferumfang enthalten

Die Bestandteile sind aufeinander abgestimmt. Die Barcode Labels auf der Innenverpackung werden zur Testdurchführung benötigt.

Anti-HBs Kugel-Container (L2AH12)
Mit Barcode. Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit gereinigtem inaktivierten humanem HBsAg Subtyp „ad“ und „ay“. Gekühlt (2–8°C) haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum.
L2KAH2: 1 Container

Anti-HBs - Reagenzbehälter (L2AHA2)
Mit Barcode. 11,5 ml - Proteinpufferlösung mit Konservierungsmittel- 11,5 ml alkalische Phosphatase (Rinderkalbsdarm), konjugiert mit gereinigtem inaktiviertem humanes HBsAg Subtyp „ad“ und „ay“ in einer Pufferlösung (mit Konservierungsmittel). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KAH2: 1 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.

Anti-HBs Kalibratoren (LAHL, LAHH)
Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) mit 2 ml HBsAg-reaktives Humanserum in Pufferlösung (mit Konservierungsmittel). 14 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KAH2: 1 Set

Anti-HBs Kontrollen (LAHC1, LAHC2, LAHC3)
Drei Fläschchen (à 4 ml) mit Barcode.
LAHC1 (Negativkontrolle): Ein Fläschchen mit HBsAg-nichtreaktivem Humanserum (mit Konservierungsmittel).
LAHC2, LAHC3 (Schwachpositivkontrolle, Positivkontrolle): Zwei Fläschchen mit HBsAg-reaktivem Humanserum (mit Konservierungsmittel). 14 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KAH2: 1 Set

Die Konzentrationen entnehmen Sie bitte der Beilage zu den Kontrollen.

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

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: (Wegwerf-) Reaktionsgefäße

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Teströhrchen.

Testdurchführung

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

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

Kalibrationsintervall: 4 Wochen

Qualitätskontrollseren: Die im Lieferumfang enthaltene(n) Kontrolle(n) dient/dienen zur Qualitätskontrolle für die Überwachung des Testsystems.

Interpretation der Ergebnisse

Die IMMULITE 2000 Anti-HBs Kalibration verwendet eine gespeicherte Eichkurve, die unter Verwendung einer Vier-Parameter-Logistik basierend auf der Dosis-CPS (counts pro Sekunde)-Beziehung während der Kalibration generiert wurde.

Reaktiv: Ein Ergebnis von ≥ 10 mIU/ml *(WHO 1st IRP 26-1-77)* zeigt an, dass Antikörper gegen HBsAg vorhanden sind und in der Patientenprobe erkannt wurden. Bei geimpften Personen bedeutet dies normalerweise einen intakten Infektionsschutz.

Nicht-reaktiv: Ein Ergebnis von weniger als 10 mIU/ml zeigt an, dass in der Patientenprobe keine Antikörper gegen HBsAg erkannt wurden, oder kein Immunschutz vorliegt.

Die vom Labor an den Arzt weitergegebenen Ergebnisse sollten daher den folgenden Passus enthalten: „Die folgenden Ergebnisse wurden mit dem IMMULITE 2000-Testsystem zur Bestimmung von Anti-HBs erzielt. Sie sind nicht mit den Ergebnissen der Testsysteme anderer Hersteller austauschbar.“

Referenzwerte

Akut mit dem Hepatitis-B-Virus infizierte Patienten weisen Anti-HBs-Antikörper etwa zwei Wochen nach Verschwinden von HBsAg auf. Diese Antikörperreaktion erreicht nach mehreren Monaten ihren Spitzenwert und fällt dann über einige Jahre allmählich ab. Gegen HBV geimpfte Personen weisen ebenfalls nachweisbare Anti-HBs-Konzentrationen auf.

Grenzen der Methode

Die Bestimmung von Anti-HBs kann durch die Anwesenheit von erhöhten Humanalbumin Konzentrationen beeinflusst werden.

Die Testergebnisse sind vor dem Hintergrund der klinischen Anamnese, der Beschwerden des Patienten sowie weiterer Laborbefunde zu bewerten.

Hämolytische oder kontaminierte Proben können zu fehlerhaften Resultaten führen.

Ein nicht-reaktiv Ergebnis schließt nicht grundsätzlich aus, dass der Patient mit Hepatitis B infiziert oder gegen HBV geimpft wurde. Die Patientenprobe sollte auf das Vorhandensein weiterer serologischer Marker wie etwa HBsAg oder Anti-HBc-IgM getestet werden.

Ein Austesten auf Anti-HBs-Antikörper allein genügt nicht, um frühere Infektionen festzustellen.

Na-Citrat kann die Bestimmung von anti-HBs-Antikörpern beeinträchtigen Für die Bestimmung von anti-HBs-Antikörpern dürfen daher nur Serum, EDTA- u. Heparin-Plasma verwendet werden.

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

Messbereich: 3–2000 mIU/ml
(WHO 1st IRP 26-1-77)

Analytische Sensitivität: ≤ 3,0 mIU/ml

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

Bilirubin: Unkonjugiertes Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 400 mg/l keinen Einfluss auf die Messung, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Hämolyse: Kann sich auf den Test auswirken und inkonsistente oder fehlerhafte Ergebnisse verursachen. (Siehe Tabelle „Hemolysis“.)

Lipämie: Triglyceride haben in Konzentrationen bis zu 3000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Alternativer Probentyp: Zu diesem Zweck wurden Blutproben (*n* = 46) in unbehandelte, heparinisierte und EDTA-behandelte Vacutainer-Röhrchen gefüllt.

(Heparin) = 1,03 (Serum) + 14 mIU/mL
r = 0,97

(EDTA) = 1,05 (Serum) + 16 mIU/mL
r = 0,88

Mittelwert:
350 mIU/mL (Serum)

376 mIU/mL (Heparin)
384 mIU/mL (EDTA)

Methodenvergleich 1: Der IMMULITE 2000 Anti-HBs Assay wurde auf der Basis von 59 Patientenproben mit dem IMMULITE Anti-HBs Assay verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 3–2000 mIU/ml. Siehe graphische „Method Comparison 1“.) Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 1,00 (IML) – 3,4 mIU/ml
r = 0,993

Mittelwert:
343 mIU/ml (IMMULITE 2000)
346 mIU/ml (IMMULITE)

Methodenvergleich 2: In einer Studie wurde der IMMULITE 2000 Anti-HBs-Assay mit dem Elecsys Anti-HBs Immunoassay anhand von 775 Proben verglichen. Die verwendeten Proben setzten sich aus nachfolgend aufgeführten Kollektiven zusammen: Serokonversionspanel, potentiell kreuzreaktive Seren, Proben von Patienten mit durchgemachter Infektion, Blutspender, Proben von hospitalisierten Patienten, sowie Proben aus einem diagnostischen Routinelabor. Die nachfolgend aufgeführte Tabelle zeigt die Ergebnisse dieser Studie.

	Anzahl Proben					
	anti-HBs Reaktiv	anti-HBs Nicht-reaktiv	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV
IMMULITE 2000 Anti-HBs						
Reaktiv	386	1	99,5%	99,7%	99,7%	99,5%
Nicht-reaktiv	2	386				
Elecsys Anti-HBs						
Reaktiv	383	5	99,0%	98,7%	98,7%	99,0%
Nicht-reaktiv	4	383				

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

siemens.com/healthcarer

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

Anti-HBs

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE 2000 — para la medición cuantitativa de los anticuerpos frente al antígeno de superficie de hepatitis B (HBsAg) en suero o plasma (heparinizado o con EDTA) humano, como ayuda en el diferencial del status inmune frente al virus de hepatitis B.

Referencia: **L2KAH2** (200 tests)

Código del Test: **aHB**
Código de Color: **Rosa Obscuro**

Resumen y Explicación del Test

El virus de la hepatitis B (HBV) es el único patógeno humano de la familia de los virus de ADN asociados a hepatitis, y se encuentra en todo el mundo. La distribución de la infección por HBV variará entre áreas geográficas y grupos de población. La transmisión del virus se produce por contacto parenteral, a través del intercambio de sangre o productos sanguíneos, contacto sexual y contagio perinatal de la madre al recién nacido[1,2]. Las manifestaciones clínicas van desde infecciones asintomáticas suaves a hepatitis fulminante grave[1,2,3]. Más del 90% de los adultos infectados padecerán una infección aguda autolimitada[1], con ictericia y funcionamiento anormal del hígado. La recuperación se produce sin secuelas crónicas[1,2].

La enfermedad hepática crónica, un estado en el cual la infección persiste durante más de seis meses, secuela conocida de la infección por hepatitis B, suele ser progresiva[1,2]. El riesgo de desarrollar el estado de portador crónico es más probable si la infección se adquiere durante la infancia que si se adquiere durante la edad adulta[4,5]. En los portadores crónicos de HBV no hay evidencia de daño hepático continuado, aunque la infección persiste y el portador conserva la capacidad de transmitir el virus[2].

La disponibilidad de vacunas recombinantes para HBV y la recomendación de inmunización universal para los niños y otras personas de alto riesgo ha contribuido a la prevención de la infección por HBV. Además, se encuentra disponible un tratamiento con interferón alfa para aliviar los síntomas. Los resultados demuestran una respuesta positiva al tratamiento en el 40 al 50% de los individuos seleccionados con hepatitis B crónica activa[4,5].

La clasificación de una infección por hepatitis B requiere la identificación de varios marcadores serológicos que se expresan durante las tres fases de la infección (incubación, fase aguda y convalecencia). El primer marcador que aparece durante la fase de incubación es HBsAg, e indica una infección por HBV en curso[1,2,4]. Anti-HBs aparece después de HBsAg, despues de que este desaparezca de la circulación sanguinea, normalmente 6 meses después de la infección, y su presencia indica recuperación e inmunidad. Algunos pocos pacientes muestran anticuerpos frente a HBsAg y han desarrollado infecciones subclinicas[5]. La presencia de anticuerpos frente a HBsAg no debería ser usado como el unico marcador para valorar una infección previa por el virus de la hepatitis B.

Principio del Análisis

IMMULITE 2000 Anti-HBs es un enzimoinmunoensayo quimioluminiscente de dos pasos en fase sólida.

La fase sólida, una bola de poliestireno, se encuentra recubierta con HBsAg purificados de los subtipos ad y ay. Un antígeno HBsAg marcado con fosfatasa alcalina, incluído en el reactivo, es añadido a la bola de poliestireno. El conjugado enzimático no unido es eliminado mediante lavado y centrifugación. Finalmente, se añade sustrato quimioluminiscente y se produce su hidrólisis en presencia de fosfatasa alcalina; la producción de fotones, medida por el luminómetro, está relacionada con la presencia de anticuerpos frente a HBsAg en la muestra.

Ciclos de incubación: 2 × 30 minutos

Recogida de la muestra

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

Las muestras hemolizadas no deben utilizarse con este ensayo.

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

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El Anti-HBs 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: 50 µl suero o plasma (heparinizado o con EDTA). (Ver “Tipos de Muestras Alternativos”.)

Conservación: 3 días a 2–8°C[6]. Para almacenar por períodos más prolongados: a –20°C[7].

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.



¡PRECAUCIÓN! RIESGO BIOLÓGICO POTENCIAL
Contiene material de origen humano. Cada donación de sangre humana o componente sanguíneo ha sido probada por métodos aprobados por la FDA con el fin de detectar la presencia de anticuerpos de los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2), así como el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y el anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (VHC). Los resultados de estas pruebas fueron negativos (no repetidamente reactivos). Ninguna

prueba ofrece total garantía de que en las muestras no haya estos agentes infecciosos u otros; por tanto, este material se deberá manipular conforme a las prácticas recomendables de laboratorio y las precauciones universales[8-10].

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.

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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las cañerias de cobre y plomo.

Ciertos componentes contienen HBsAg que ha sido inactivado por métodos probados y documentados. Sin embargo, manipúlelos siempre como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos.

Los resultados determinados para una muestra dada mediante ensayos de distintos fabricantes pueden variar debido a diferencias en los métodos de ensayo y a la especificidad del reactivo. Los resultados enviados por el laboratorio al médico deberían incluir lo siguiente: “Los siguientes resultados se han obtenido con el ensayo de Anti-HBs IMMULITE 2000. No se pueden intercambiar con los valores obtenidos con los métodos de ensayo de otros fabricantes.”

Substrato 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 Anti-HBs (L2AH12)
Con códigos de barras. 200 bolas recubiertas con los subtipos ad y ay de HBsAg humano inactivado, purificado. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KAH2: 1 cartucho

Vial de Reactivo de Anti-HBs (L2AHA2)
Con códigos de barras. 11,5 ml de un tampón con proteína proteína, con conservante. 11,5 ml de fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada a los subtipos ad y ay de HBsAg inactivado, humano, purificado, en una solución tampón, con conservante. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KAH2: 1 vial

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 Anti-HBs (LAHL, LAHH)
Dos viales (bajo y alto), de 2 ml cada uno, de Suero humano reactivo a HBsAg, en solución tampón, con conservante. Estable a 2–8°C durante 14 días después de abrirse o durante 6 meses (alicuotado) a –20°C.
L2KAH2: 1 juego

Controles de Anti-HBs (LAHC1, LAHC2, LAHC3)
Tres viales de cada uno 4 ml. **LAHC1 (El Control Negativo):** 1 vial contiene suero humano no reactivo a HBsAg, con conservante. **LAHC2, LAHC3 (El Control Bajo Positivo, Control Positivo):** 2 viales contiene suero humano reactivo a HBsAg, con conservante Estable a 2–8°C durante 14 días después de abrirse o durante 6 meses (alicuotado) a –20°C.
L2KAH2: 1 juego

Para los intervalos control actuales, por favor consulte el prospecto del Control.

Antes de procesar adjustadores o controles, 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: Substrato 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

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

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste: 4 semanas

Muestras de Control de Calidad: El/los control(es) suministrados con el kit deben utilizarse como control de calidad con el objetivo de controlar el funcionamiento del ensayo.

Interpretación de los resultados

La calibración del IMMULITE 2000 Anti-HBs utiliza una curva maestra almacenada, generada por el modelo matemático logístico de cuatro parámetros, que se basa en la relación de dosis a CPS (cuentas por segundo) durante el proceso de calibración.

Reactivo: Un resultado mayor o igual a 10 mIU/ml (WHO 1st IRP 26-1-77) indica la presencia y detección de anticuerpos frente al HbsAg en la muestra del paciente. En individuos vacunados indica generalmente la protección frente a la infección.

No reactivo: Un resultado menor de 10 mIU/ml indica que no se han detectado anticuerpos frente al HbsAg en la muestra del paciente, o que se encuentran por debajo del nivel de protección inmunitaria.

Los resultados enviados por el laboratorio al médico deberían incluir lo siguiente: “Los siguientes resultados se han obtenido con el ensayo de Anti-HBs IMMULITE 2000. No se pueden intercambiar con los valores obtenidos con los métodos de ensayo de otros fabricantes.”

Valores esperados

Individuos con infección aguda por el virus de Hepatitis B exhibirán anticuerpos anti-HBs aproximadamente dos semanas tras la desaparición del HBsAg. Esta respuesta de anticuerpos alcanzará el nivel máximo tras varios meses y declinará gradualmente a lo largo de un período de años. Las personas que hayan sido vacunadas frente a HBV, tendrán también niveles detectables de anti-HBs.

Limitaciones

Los valores de Anti-HBs pueden afectarse por la presencia de niveles elevados de albúmina humana.

Los resultados del análisis deben contemplarse en el contexto del historial clínico de los pacientes, de su sintomatología y de los demás hallazgos del laboratorio.

Las muestras hemolizadas o ampliamente contaminadas pueden dar resultados erróneos.

Un resultado no reactivo no indica que el paciente no fuera infectado por el HBV ó que no estuviera vacunado frente al HBV. La muestra del paciente debe analizarse para detectar la presencia de otros marcadores serológicos.

El ensayo aislado frente a los anticuerpos anti-HBs no es suficiente para la determinación de infecciones anteriores.

El citratro sódico afectará a la medición de los anticuerpos frente al antígeno de superficie de la Hepatitis B. Usar exclusivamente suero, plasma con EDTA o plasma con heparina.

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

Características Analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo ver las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en mIU/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.)

Intervalo de Calibración:
3–2000 mIU/ml
(WHO 1st IRP 26-1-77)

Sensibilidad: ≤ 3,0 mIU/ml

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

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina no conjugada en concentraciones hasta 400 mg/l no tiene efecto en el ensayo, en lo concerniente a la precisión del ensayo.

Hemólisis: Puede interferir en el ensayo provocando resultados erroneos o contradictorios. (Ver la tabla de “Hemolysis”.)

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

Tipo de Muestra Alternativa: Se han recogido muestras (*n* = 46) en tubos Vacutainers sin anticoagulante y heparinizados y en tubos Vacutainers con EDTA.

(Heparina) = 1,03 (Suero) + 14 mIU/ml
r = 0,97

(EDTA) = 1,05 (Suero) + 16 mIU/ml
r = 0,88

Medias:
350 mIU/ml (Suero)
376 mIU/ml (Heparina)
384 mIU/ml (EDTA)

Comparación de los métodos 1: El ensayo IMMULITE 2000 Anti-HBs fue comparado con el IMMULITE Anti-HBs en 59 muestras de pacientes. (Rango de Concentración: aproximadamente 3–2000 mIU/ml. Ver el gráfico “Method Comparison 1”.) Por regresión linear:

(IML 2000) = 1,00 (IML) – 3,4 mIU/ml
r = 0,993

Medias:
343 mIU/ml (IMMULITE 2000)
346 mIU/ml (IMMULITE)

Comparación de los métodos 2: Se comparó el procedimiento Anti-HBs IMMULITE 2000 con el inmunoensayo Anti-HBs Elecsys en 775 muestras. Las muestras consistieron de paneles de seroconversión, muestras con reactividad cruzada potencial, muestras de pacientes con infección HBV resuelta, de individuos vacunados y de pacientes hospitalizados y muestras de rutina. La tabla de abajo presenta los resultados de este estudio.

	No. de muestras					
	anti-HBs Reactivo	anti-HBs No reactivo	Sensibil-idad	Especifi-cidad	PPV	NPV
IMMULITE 2000 Anti-HBs						
Reactivo	386	1	99,5%	99,7%	99,7%	99,5%
No reactivo	2	386				
Elecsys Anti-HBs						
Reactivo	383	5	99,0%	98,7%	98,7%	99,0%
No reactivo	4	383				

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

siemens.com/healthcare

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

IMMULITE 2000 Anti-HBs

Domaine d'utilisation : Dosage quantitatif de l' anti-HBs dans le sérum et le plasma (hépariné ou EDTA) humains. Ce test est réservé à un usage diagnostique *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000 et constitue une aide pour la détermination du statut immunologique vis-à-vis du virus de l'hépatite B.

Référence catalogue :
L2KAH2 (200 tests)

Code produit : **aHB**
Code couleur : **rose foncé**

Introduction

Le virus de l'hépatite B (HBV) est l'unique virus humain pathogène de la famille des virus à ADN associés à l'hépatite. Il est ubiquitaire. La distribution de l'infection à HBV est variable en fonction des zones géographiques et des groupes de population. Le virus est transmis par contact parentéral, par le sang ou les produits sanguins, par contact sexuel ou par contamination périnatale de la mère à l'enfant.[1,2] Les manifestations cliniques vont de l'infection asymptomatique à modérée à l'hépatite fulminante.[1,2,3] Plus de 90% des adultes infectés auront une infection aiguë, avec ictère et dysfonctionnement hépatique, qui guérira d'elle-même.[1] La guérison ne s'accompagne d'aucune séquelle chronique.[1,2]

L'hépatite chronique, état clinique où l'infection dure plus de 6 mois, est une séquelle connue et habituellement progressive[1,2] d'une infection par le virus de l'hépatite B. Le risque de devenir porteur chronique est plus important après une infection contractée dans l'enfance qu'à l'âge adulte.[4,5] Il n'y a pas toujours de signe de lésion hépatique chez les porteurs chroniques,[1,2] mais l'infection persiste et le porteur reste contagieux.[2]

La mise au point de vaccins recombinants pour l'HBV et la vaccination systématique recommandée chez les enfants en bas âge et les personnes très exposées, ont été utiles à la prévention des infections par l'HBV. De plus, le traitement symptomatique par l'interféron alpha est maintenant disponible. Les résultats montrent une réponse positive au traitement chez 40 à 50 % d'individus sélectionnés ayant une hépatite B chronique.[4,5]

La classification d'une infection par HBV suppose l'identification de plusieurs marqueurs sérologiques exprimés au cours des trois phases (incubation ; phase aiguë ; convalescence) de l'infection. Le premier marqueur à apparaître au cours de la phase d'incubation est l'antigène de surface HBs qui témoigne d'une infection par HBV en cours.[1,2,4] Les anticorps anti-HBs apparaissent normalement quand la clairance sérique del'HBsAg est totale, habituellement dans les 6 mois suivant la primo-infection, et leur présence témoigne de la guérison et de l'immunité. Néanmoins, chez certains patients ayant des anti-HBs, des infections subcliniques ont pu s'instaurer.[5] La présence d'anti-HBs n'est pas un marqueur permettant d'établir à lui seul une infection antérieure par le virus de l'hépatite B.

Principe du test

IMMULITE 2000 Anti-HBs est un immunodosage chimiluminescent enzymatique, en deux étapes, en phase solide.

La phase solide, une bille de polystyrène, est revêtue d'antigène HBs purifié, sous-types ad et ay. De l'antigène HBs marqué à la phosphatase alcaline, inclus dans le réactif, est ajouté à la bille de polystyrène. Le conjugué enzymatique non lié est ensuite éliminé par lavage avec centrifugation axiale. Enfin, le substrat chimiluminescent est ajouté et subit une hydrolyse en présence de phosphatase alcaline et le signal généré, mesuré par le luminomètre, est proportionnel aux anticorps anti-AgHBs présents dans l'échantillon.

Cycles d'incubation : 2 × 30 minutes

Recueil des échantillons

Il est recommandé de clarifier les échantillons hyperlipémiques par ultracentrifugation.

Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés avec ce dosage.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dûs 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 IMMULITE 2000 Anti-HBs 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 : 50 µl de sérum ou de plasma (de hépariné ou EDTA). (Voir Autres Types d'Échantillons.)

Conditions de conservation :
3 jours à 2–8°C.[6] Pour une conservation prolongée : à –20°C.[7]

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.



AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL
Contient du matériel d'origine humaine. Chaque don de sang ou de composant sanguin humain a été testé selon des méthodes homologuées par la FDA afin de détecter la présence d'anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2), ainsi que la présence d'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) et d'anticorps anti-virus de l'hépatite C (VHC). Les résultats de ces tests se sont révélés négatifs (ou positifs mais de façon non répétable). Aucun test ne peut garantir totalement l'absence d'agents infectieux tels que ceux-ci ou d'autres. Par conséquent, ce matériel doit être manipulé conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux précautions universelles.[8-10]

AVERTISSEMENT : Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.

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.

Certains produits contiennent des antigènes HBs inactivés selon des méthodes avérées et documentées. Néanmoins, il convient de toujours manipuler ces produits comme s'ils étaient des agents potentiellement infectieux.

Les résultats d'Anti HBs obtenus sur un échantillon donné, avec les tests de différents fabricants, pourront présenter des différences dues à la méthologie utilisée et à la spécificité du réactif. Par conséquent, les résultats communiqués au médecin par le laboratoire devront comporter la mention suivante : « Les résultats suivants ont été obtenus avec le dosage IMMULITE 2000 Anti-HBs. Les résultats obtenus avec les trousses d'autres fabricants ne doivent pas y être substitués. »

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 Anti-HBs (L2AH12)
Avec code-barres. 200 billes revêtues d'antigène HBs humain, sous-types ad et ay, purifié et inactivé. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KAH2 : 1 cartouche

Cartouche à réactif Anti-HBs (L2AHA2)
Avec code-barre. 11,5 ml de tampon à base de protéines, avec conservateur. 11,5 ml d'antigène HBs, sous-types ad et ay, purifié et inactivé marqué à la phosphatase alcaline (intestins de veau) dans un tampon, avec conservateur. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KAH2 : 1 cartouche

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 Anti-HBs (LAHL, LAHH)
2 flacons (« haut » et « bas ») de 2 ml chacun contenant du sérum humain réactif pour l'antigène HBs dans un tampon, avec conservateur. Stable à 2–8°C pendant 14 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à –20 °C.
L2KAH2 : 1 jeu

Contrôles Anti-HBs (LAHC1, LAHC2, LAHC3)
Trois flacons (4 ml each) avec code-barre. **LAHC1 (Contrôle Négatif) :** Un flacon de sérum humain non-réactif pour l'Anti HBs, avec conservateur. **LAHC2, LAHC3 (Contrôle Positif Faible, Contrôle Positif) :** Deux flacons de sérum humain réactif pour l'Anti HBs, avec conservateur. Stable à 2–8°C pendant 14 jours après ouverture ou 6 mois (aliquotés) à –20°C.
L2KAH2 : 1 jeu

Se reporter à la fiche technique du contrôle pour les concentrations.

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes 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 à essai

Protocole de dosage

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

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

Intervalle d'ajustement : 4 semaines

Echantillons pour le contrôle de qualité : les contrôles fournis avec le coffret devront être utilisés comme contrôle de qualité pour le suivi des performances du dosage.

Interprétation des résultats

La calibration du test IMMULITE 2000 Anti-HBs utilise une courbe maitresse enregistrée, générée selon le modèle mathématique 4 P logistique et qui établit la relation concentration-CPS (coups par seconde) observée pendant le processus de calibration.

Réactif : Un résultat supérieur ou égal à 10 mUI/ml (*1st IRP 26-1-77* de l'OMS) indique que des anticorps anti-HBs étaient présents et ont été détectés dans l'échantillon. Chez les individus vaccinés, cela indique habituellement une immunisation contre le virus.

Non-réactif : Un résultat inférieur à 10 mUI/ml indique que des anticorps anti-HBs n'ont pas été détectés dans l'échantillon du patient ou sont en quantité inférieure au taux considéré comme protecteur.

Les résultats communiqués au médecin par le laboratoire devront comporter la mention suivante : « Les résultats suivant ont été obtenus avec le dosage IMMULITE 2000 Anti-HBs. Les résultats obtenus avec des procédés de dosage d'autres fabricants ne doivent pas y être substitués. »

Valeurs de référence

Les anticorps anti-HBs apparaissent environ deux semaines après la disparition de l'antigène HBs chez les individus infectés de façon aiguë par le virus de l'hépatite B. La réponse anticorps atteint un pic après plusieurs mois et puis le taux diminue graduellement sur plusieurs années. Les individus vaccinés contre l'HBV ont également des taux mesurables d'anti-HBs.

Limites

Le dosage de l'anti HBs peut être affecté par la présence de taux élevés d'albumine humaine.

Les résultats doivent impérativement être interprétés selon le contexte de l'histoire clinique du patient, la symptomatologie et les autres données de laboratoire.

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

Un résultat non-réactif n'indique pas que le patient n'a pas été infecté par l'HBV ou n'a pas été vacciné contre l'HBV. D'autres marqueurs sérologiques doivent être recherchés sur cet échantillon.

La seule recherche des anticorps anti-HBs ne suffit pas à faire le diagnostic d'une infection passée.

Le citrate de sodium peut interférer dans le dosage des anticorps dirigés contre l'antigène de surface de l'hépatite B. Utiliser uniquement du sérum ou du plasma hépariné ou EDTA.

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

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en mUI/ml. (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.)

Domaine de calibration :
3–2000 mUI/ml
(1st IRP 26-1-77 de l'OMS)

Sensibilité analytique : ≤ 3,0 mUI/ml

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

Bilirubine : La présence de bilirubine, non conjuguée, n'a aucun effet sur le dosage ni sur sa précision si la concentration ne dépasse pas 400 mg/l.

Hémolyse : susceptible d'interférer avec le dosage et de produire des résultats discordants ou erronés. (Voir le tableau « Hemolysis ».)

Lipémie : La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 3000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

Autres types d'échantillons : les échantillons (n = 46) ont été recueillis sur tubes vacutainer secs, héparinés ou EDTA.

(Héparine) = 1,03 (Sérum) + 14 mUI/mL
r = 0,97

(EDTA) = 1,05 (Sérum) + 16 mUI/mL
r = 0,88

Moyennes :
350 mUI/mL (Sérum)
376 mUI/mL (Héparine)
384 mUI/mL (EDTA)

Comparaison de méthodes 1 : le test IMMULITE 2000 Anti-HBs a été comparé au dosage IMMULITE Anti-HBs sur 59 échantillons de patients (dont les concentrations allaient de 3 à 2000 mUI/ml. Voir graphique « Method Comparison 1 ».) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 1,00 (IML) – 3,4 mUI/ml
r = 0,993

Moyennes :
343 mUI/ml (IMMULITE 2000)
346 mUI/ml (IMMULITE)

Comparaison de méthodes 2 : Le test IMMULITE 2000 Anti-HBs a été comparé au test Elecsys Anti-HBs sur 775 échantillons, provenant de panels de séroconversion, ou incluant des échantillons avec des réactions croisées potentielles, ou obtenus chez des patients avec une infection par l'HBV guérie, ou vaccinés pour l'HBV ainsi que des échantillons de patients hospitalisés ou de routine. Le tableau ci-dessous présente les résultats de cette étude.

	No. d'échantillons					
	anti-HBs Réactif	anti-HBs Non-réactif	Sensibilité	Spécificité	PPV	NPV
IMMULITE 2000 Anti-HBs						
Réactif	386	1	99,5%	99,7%	99,7%	99,5%
Non-réactif	2	386				
Elecsys Anti-HBs						
Réactif	383	5	99,0%	98,7%	98,7%	99,0%
Non-réactif	4	383				

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

siemens.com/healthcare

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

Italiano

IMMULITE 2000 Anti-HBs

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa *anticorpi anti Antigene di Superficie dell'Epatite B* (Anti-HBs) nel siero o plasma (eparinizzato o EDTA) umano, quale ausilio nella determinazione dell'immunità al virus dell'Epatite B.

Codice: **L2KAH2** (200 test)

Codice del Test: **aHB** Colore: **Rosa scuro**

Riassunto e Spiegazione del Test

Il virus dell'Epatite B (HBV) è l'unico patogeno umano nella famiglia dei virus a DNA associati all'Epatite, ed ha diffusione mondiale. La distribuzione dell'infezione da HBV varia a seconda della zona geografica e del gruppo di popolazione. La trasmissione del virus avviene attraverso contatto parenterale, scambio di sangue o di emoderivati, rapporti sessuali, e trasmissione perinatale dalla madre al neonato.[1,2] Le manifestazioni cliniche variano da infezioni asintomatiche lievi all'Epatite fulminante grave.[1,2,3] Più del 90% degli adulti infettati presenteranno un'infezione acuta auto-limitante [1] con itterizia ed una funzione epatica alterata. La guarigione avviene senza sequele croniche.[1,2]

La malattia cronica del fegato, una condizione in cui l'infezione persiste per più di sei mesi, una sequela nota dell'infezione da Epatite B, è spesso progressiva.[1,2] E' molto più probabile che il rischio di sviluppare lo stato di portatore cronico segua l'infezione contratta in gioventù più che l'infezione contratta da adulti.[4,5] Nei portatori cronici di HBV non è stato riscontrato un danno epatico nel tempo;[1,2] comunque, l'infezione persiste ed il portatore mantiene la capacità di trasmettere il virus.[2]

La disponibilità di vaccini HBV recombinanti e la raccomandazione di immunizzare i neonati e le persone a rischio ha aiutato nella prevenzione delle infezioni da HBV. Inoltre, è disponibile il trattamento con alfa-interferone per

alleviare i sintomi. I risultati hanno dimostrato una risposta positiva al trattamento nel 40–50% di individui con Epatite B cronica attiva.[4,5]

La classificazione dell'infezione da Epatite B richiede l'identificazione di alcuni marcatori sierologici presenti durante tre fasi (incubazione, fase acuta, e convalescenza) dell'infezione. Il primo marcatore ad apparire durante la fase d'incubazione è l'HBsAg, ed indica un'infezione da HBV.[1,2,4] Generalmente, gli anticorpi anti-HBsAg appaiono dopo la scomparsa dell'HBsAg dal circolo sanguigno, di solito 6 mesi dopo l'infezione, e la loro presenza è sinonimo di guarigione ed immunizzazione. Comunque, in alcuni pazienti che presentano anticorpi anti-HBsAg, si sono sviluppate infezioni subcliniche.[5]
La presenza di anticorpi anti-HBsAg non dovrebbe essere utilizzata come unico marcatore nella determinazione di un'infezione precedente da Epatite B.

Principio del Dosaggio

IMMULITE 2000 Anti-HBs è un immunodosaggio enzimatico in chemiluminescenza a in fase solida, a due fasi.

La fase solida, una sferetta di polistirolo, viene coattata con un sottotipo purificato HBsAg ad e ay. Un HBsAg marcato con fosfatasi alcalina, fornito con il reagente, viene aggiunto alla sferetta di polistirolo. Il coniugato enzimatico non legato viene quindi rimosso attraverso un lavaggio a centrifuga. Infine, viene aggiunto substrato chemiluminescente e viene sottoposto a idrolisi in presenza di fosfatasi alcalina; la produzione di fotoni, misurata dal luminometro, è in relazione alla presenza di anticorpi anti HBsAg nel campione.

Cicli d'incubazione: 2 × 30 minuti

Raccolta del Campioni

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

I campioni emolizzati non devono essere utilizzati in questo dosaggio.

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 Anti-HBs non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume richiesto: 50 µL di siero o plasma (eparinizzato o EDTA). (Vedi “Campioni Alternativi”.)

Conservazione: 3 giorni a 2–8°C.[6] Per una conservazione più estesa: a –20°C.[7]

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.



ATTENZIONE! POTENZIALE PERICOLO BIOLOGICO
Contiene materiale di origine umana. Ciascuna donazione di sangue o componenti ematici umani è stata testata con metodi approvati dalla FDA per rilevare la presenza di anticorpi al virus dell'immunodeficienza umana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2), nonché per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e gli anticorpi al virus dell'epatite C (HCV). I risultati del test sono stati negativi (non ripetutamente reattivi). Nessun test offre assicurazione completa che questi o altri agenti infettivi siano assenti; questo materiale va trattato utilizzando le corrette prassi di laboratorio e le precauzioni universali.[8-10]

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale portatore e trasmettitore di agenti patogeni.

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

Seguire le precauzioni universali, e maneggiare tutti i componenti come se fossero capaci di trasmettere agenti infettivi. Sono stati analizzati i materiali di

sorgente dal sangue umano e sono stati trovati non reattivi per sifilide; per anticorpi ad HIV 1 e 2; per l'antigeno superficiale dell'epatite B; e per anticorpi all'epatite C.

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

Alcuni componenti contengono HBsAg, inattivato con metodi validati e documentati. Comunque, è consigliabile trattarli come se potessero trasmettere agenti infettivi.

La concentrazione di anti antigene di superficie dell'HBsAg in un dato campione determinata utilizzando dosaggi di produttori diversi può variare a causa delle differenze nei metodi di dosaggio, e nella specificità dei reagenti. Quindi, risultati provenienti dal laboratorio e diretti al medico devono includere quanto segue: “I seguenti risultati sono stati ottenuti con il kit IMMULITE 2000 Anti-HBs EIA. I valori ottenuti con dosaggi di altri produttori non sono interscambiabili”.

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

Acqua: Utilizzare 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 Anti-HBs (L2AH12)
Con codice a barre. 200 sferette coattate con sottotipo umano purificato ed inattivato HBsAG ad e ay. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KAH2: 1 confezione

Porta Reagente Anti-HBs (L2AHA2)
Con codice a barre. 11,5 mL di tampone a base proteica, con conservanti. 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugato con sottotipo umano purificato ed inattivato HBsAG ad e ay in un tampone, con conservanti. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KAH2: 1 porta reagente

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.

Calibratori Anti-HBs (LAHL, LAHH)
Due flaconi (Basso ed Alto), ciascuno con 2 mL di siero umano reattivo anti-HBsAg in un tampone, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 14 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KAH2: 1 set

Controlli Anti-HBs (LAHC1, LAHC2, LAHC3)
Tre fiale (4 mL) con codici a barre.
LAHC1(Controllo Negativo): 1 fiale contenente siero umano non reattivo all'HBsAg, con conservanti. **LAHC2, LAHC3 (Controllo Basso Positivo, Controllo Positivo):** due fiale contenenti siero umano reattivo all'HBsAg, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 14 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KAH2: 1 set

Fare riferimento alla metodica del controllo per i livelli della concentrazione.

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

Componenti del Kit Forniti Separatamente

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 ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione: 4 settimane

Controllo di Qualità: I controlli forniti con il kit devono essere utilizzati come materiale di controllo di qualità per monitorare le prestazioni del dosaggio.

Interpretazione dei risultati

La calibratura di IMMULITE 2000 Anti-HBs impiega una curva matrice immagazzinata, generata dal modello matematico logistico di quattro-parametri, basato sul rapporto della dose CPS (conteggi per secondo) durante il processo di calibratura.

Reattivo: Un risultato superiore o uguale a 10 mIU/mL (WHO 1st IRP 26-1-77) indica che sono stati rilevati anticorpi anti-HBsAg nel campione. Generalmente in individui vaccinati, questo significa una protezione contro l'infezione.

Non reattivo: Un risultato inferiore a 10 mIU/mL indica che non sono stati rilevati anticorpi anti-HBsAg nel campione o che gli stessi sono al di sotto del livelli di immunità.

I risultati comunicati dal laboratorio al medico devono includere quanto segue: "I risultati seguenti sono stati ottenuti con il kit IMMULITE 2000 Anti-HBs EIA. I valori ottenuti con dosaggi diversi non possono essere interscambiati".

Valori Attesi

Individui con infezioni acute da Epatite B presenteranno anticorpi anti-HBs circa due settimane dopo la scomparsa dell'HBsAg. Questa risposta anticorpale raggiunge livelli massimi dopo alcuni mesi e diminuisce gradualmente durante un periodo di anni. Anche le persone che sono state vaccinate contro l'HBV avranno livelli rilevabili di anti-HBs.

Limiti

La misurazione dell'Anti-HBs può essere influenzata dalla presenza di elevati livelli di albumina umana.

I risultati del dosaggio devono essere considerati nel contesto dell'anamnesi e della sintomatologia del paziente e di altre informazioni fornite dal laboratorio.

Campioni emolizzati o grossolanamente contaminati possono produrre risultati errati.

Un risultato non reattivo non indica che il paziente non sia stato infettato dall'HBV o che non sia stato vaccinato contro l'HBV. Il campione deve essere testato per la presenza di altri marcatori sierologici.

Il dosaggio per gli anticorpi anti-HBs utilizzato da solo non è sufficiente per la determinazione di infezioni precedenti.

Il citrato di sodio influenza la misurazione degli anticorpi anti-Antigene di Superficie dell'Epatite B Utilizzare solo siero, plasma EDTA o plasma eparinizzato.

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 mIU/mL. (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:
3–2000 mIU/mL (WHO 1st IRP 26-1-77)

Sensibilità Analitica: ≤ 3,0 mIU/mL

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

Bilirubina: La presenza di bilirubina non coniugata in concentrazioni fino a 400 mg/L non ha nessun effetto entro il range di precisione del dosaggio.

Emolisi: può interferire con il dosaggio causando risultati inconsistenti o errati. (Vedi la Tabella “Hemolysis”.)

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

Tipo di Campione Alternativo: I campioni (n = 46) sono stati prelevati in provette semplici, eparinizzate o vacutainer EDTA.

(Eparina) = 1,03 (Siero) + 14 mIU/mL
r = 0,97

(EDTA) = 1,05 (Siero) + 16 mIU/mL
r = 0,88

Valore medio:
350 mIU/mL (Siero)
376 mIU/mL (Eparina)
384 mIU/mL (EDTA)

Comparazione dei Metodi 1: Il dosaggio Anti-HBs IMMULITE 2000 è stato comparato all’Anti-HBs IMMULITE su 59 campioni di pazienti. (Range di concentrazione: da 3–2000 mIU/mL. Vedi grafico “Method Comparison 1”.) Con regressione lineare:

(IML 2000) = 1,00 (IML) – 3,4 mIU/mL
r = 0,993

Valore medio:
343 mIU/mL (IMMULITE 2000)
346 mIU/mL (IMMULITE)

Comparazione dei Metodi 2: Il kit IMMULITE 2000 Anti-HBs è stato comparato all'immunodosaggio Elecsys Anti-HBs su 775 campioni, composti da pannelli di sieroconversione, campioni potenzialmente crossreattivi, campioni di pazienti con infezione da HBV risolta, individui vaccinati, pazienti ospedalizzati e campioni provenienti dalla routine. La tabella sottostante presenta i risultati di questo studio.

	No. di campioni					
	anti-HBs Reattivo	anti-HBs Non reattivo	Sensibil-ità	Specific-ità	PPV	NPV
IMMULITE 2000 Anti-HBs						
Reattivo	386	1	99,5%	99,7%	99,7%	99,5%
Non reattivo	2	386				
Elecsys Anti-HBs						
Reattivo	383	5	99,0%	98,7%	98,7%	99,0%
Non reattivo	4	383				

Assistenza Tecnica

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

siemens.com/healthcare

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

Anti-HBs

Utilização: Para uso no diagnóstico *in vitro* com os Analisadores dos Sistemas IMMULITE 2000 — para o doseamento quantitativo de anticorpos contra o antigénio de superfície da hepatite B (anti-HBs) no soro ou plasma (colhido com heparina e EDTA) humano, como auxiliar na determinação do estado imune para o vírus da hepatite B.

Números de catálogo:
L2KAH2 (200 testes)

Código do teste: **aHB** Cor: **Rosa escuro**

Sumário e explicação do teste

O vírus da hepatite B (HBV) é o único agente patógenico da família das hepatites virais associadas ao DNA e está desseminado por todo o mundo. A distribuição da infecção por HBV varia por áreas geográficas e grupos da população. A transmissão do vírus é devida ao contacto parentérico através da troca de sangue ou produtos sanguíneos, contacto sexual e propagação perinatal da mãe para o recém-nascido[1,2]. As manifestações clínicas variam de

infecções assintomáticas moderadas a hepatites fulminantes severas[1,2,3]. Mais de 90% de adultos infectados terão uma infecção aguda auto-limitada[1], com icterícia e função hepática anormal. A recuperação ocorre sem nenhumas sequelas crónicas[1,2].

A doença crónica do fígado, na qual a infecção persiste por mais de 6 meses, uma sequela conhecida da infecção por hepatite B, é em geral progressiva[1,2]. O risco de se tornar um portador crónico é mais provável no seguimento duma infecção adquirida na infância do que na idade adulta[4,5]. Em portadores crónicos de HBV, não há provas de dano hepático contínuo[1,2], contudo, a infecção persiste e o portador mantém a capacidade de transmitir o vírus[2].

A disponibilidade de vacinas HBV recombinantes e a recomendação de imunização para recém-nascidos e outras pessoas de alto risco têm auxiliado na prevenção da infecção por HBV. Além disso, o tratamento com alfa-interferon para aliviar os sintomas está disponível. Os resultados têm demonstrado respostas positivas ao tratamento em 40–50% de indivíduos com hepatite B activa crónica[4,5].

A classificação de uma infecção por hepatite B requer a identificação de vários marcadores serológicos expressos durante três fases (incubação, aguda e convalescente) da infecção. O primeiro marcador a surgir durante a fase de incubação é o HBsAg, e indica a existência de uma infecção por HBV[1,2,4]. Anticorpos para o HBsAg surgem, em geral, após o HBsAg desaparecer da circulação sanguínea, geralmente seis meses após a infecção, e a sua presença representa recuperação e imunidade. Contudo, alguns doentes comprovadamente portadores de anticorpos para HBsAg, desenvolveram infecções subclínicas[5]. A presença de anticorpos para HBsAg não deverá ser usada como o único marcador na determinação de uma infecção antiga por hepatite B.

Princípio do procedimento

IMMULITE 2000 Anti-HBs é um ensaio de fase sólida, de dois ciclos, imunoensaio enzimoquimioluminescente.

A fase sólida, esfera de poliestireno é revestida com subtipos de HbsAg purificados ad e ay. HbsAg marcado com fosfatase alcalina, fornecido no reagente é adicionado à esfera de polistireno. A enzima conjugada não ligada é então removida por lavagem centrifuga. Finalmente é adicionado substrato quimioluminescente e inicia-se a hidrólise na presença de fosfatase alcalina. A emissão de fotões medida pelo luminometro é proporcional à presença de anticorpos para HBsAg na amostra.

Ciclos de incubação: 2 × 30 minutos

Colheita

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

Neste ensaio não devem ser utilizadas amostras hemolizadas.

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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 Anti-HBs não foram ainda testados com todas as possiveis 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: 50 µL de soro ou plasma (heparinizado e EDTA). (Consulte “Tipos de Amostras Alternativas”.)

Estabilidade: 3 dias a 2–8°C[6]. Para períodos mais longos de armazenamento: a –20°C[7].

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.



PRECAUÇÃO! POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO
Contém material de origem humana. Cada dádiva de sangue ou componente de sangue humano foi testada pelos métodos aprovados pela FDA quanto à presença de anticorpos dos vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e tipo 2 (VIH-2), bem como do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e dos anticorpos do vírus da hepatite C (VHC). Os resultados dos testes foram negativos (não repetidamente reativos). Nenhum teste oferece total garantia de que estes ou outros agentes infeciosos estejam ausentes; este material deve ser manuseado de acordo com as boas práticas laboratoriais e precauções universais[8-10].

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.

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.

Certos componentes contêm HBsAg que foi inactivado por métodos documentados e comprovados. Contudo, lide sempre com estes componentes como tendo o potencial de transmitir agentes infecciosos.

Os resultados de Anti-HBs determinados para uma dada amostra com doseamento de diferentes fabricantes podem variar devido a diferenças nos métodos de análise e especificidade de reagente. Contudo, os resultados reportados pelo laboratório ao médico devem incluir: “Os seguintes resultados foram obtidos com IMMULITE 2000 Anti-HBs EIA. Os resultados obtidos por métodos de doseamento de outros fabricantes não podem ser comparados.”

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

Água: Use água destilada ou deionizada.

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 Anti-HBs (L2AH12)
Com código de barras. 200 pérolas revestidas com subtipos de HbsAg ad e ay humanos purificados e inactivados. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KAH2: 1 embalagem

Embalagem de reagente de Anti-HBs (L2AHA2)
Com código de barras. 11,5 mL de tampão de base proteica, com conservante. 11,5 mL de fosfatase alcalina (intestino de bezerro) conjugada com subtipos de HbsAg ad e ay humanos purificados e inactivados e tamponizados, com conservante. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KAH2: 1 embalagem

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 Anti-HBs (LAHL, LAHH)
Dois frascos (nível alto e baixo) cada um contendo 2 mL de soro humano tamponizado reactivo a HBsAg, com conservante. Estável, após a abertura, durante 14 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KAH2: 1 conjunto

Controlos de Anti-HBs (LAHC1, LAHC2, LAHC3)
Três frascos contendo cada um 4 mL. **LAHC1 (Controlo Negativo):** 1 frasco soro humano não reactivo a HBsAg, com conservante. **LAHC2, LAHC3 (Controlo Positivo Baixo, Controlo Positivo):** 2 frascos soro humano tamponizado reactivo a HBsAg, com conservante. Estável, após a abertura, durante 14 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KAH2: 1 conjunto

Consultar os valores para os diferentes niveis de controlos na literatura inserida no kit

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

Componentes do kit fornecidos separadamente

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 do doseamento

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

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

Intervalo entre ajustes: 4 semanas

Amostras de controlo de qualidade: Os controlos fornecidos com o kit devem ser utilizados como material de controlo de qualidade para monitorizar o desempenho do doseamento.

Interpretação dos resultados

A calibração do anti-HBs IMMULITE 2000 utiliza uma curva mãe armazenada, gerada por um modelo matemático logist de quarto parâmetros baseados na contagem de CPS (contagens por segundo) obtidas durante o processo de calibração.

Reativo: Um resultado superior ou igual a 10 mIU/mL (WHO 1st IRP 26-1-77) indica que anticorpos para o HBsAg estão presentes e foram detectados na amostra. Em indivíduos vacinados isto, normalmente, indica protecção contra a infecção.

Não reativo: Um resultado de menos de 10 mIU/mL indica que não foram detectados anticorpos para HBsAg na amostra do doente.

Os resultados reportados pelo laboratório ao médico devem incluir: “Os seguintes resultados foram obtidos com IMMULITE 2000 Anti-HBs EIA. Os resultados obtidos com métodos de doseamento de outros fabricantes não podem ser comparados.”

Valores de Referência

Indivíduos com infecções agudas pelo vírus da Hepatite B apresentam anti-HBs aproximadamente duas semanas após o desaparecimento do HBsAg. A resposta deste anticorpo atinge níveis máximos após vários meses e decresce gradualmente durante um período de anos. As pessoas vacinadas contra HBV também apresentam níveis detectáveis de anti-HBs.

Limitações

O doseamento do Anti-HBs pode ser afectado pela presença de níveis elevados de albumina humana.

Os resultados do teste devem ser avaliados dentro do contexto da história clínica do doente, sintomatologia e outros resultados laboratoriais.

Amostras hemolisadas ou totalmente contaminadas podem causar resultados erróneos.

Um resultado não reativo não indica que o doente não foi infectado com HBV ou vacinado para HBV: a amostra do doente deve ser testada quanto à presença de outros marcadores serológicos.

O teste para anticorpos anti-HBs, por si só, não é suficiente para determinar infecções anteriores.

O citrato de sódio afecta o doseamanto dos anticorpos contra o antigénio de superfície da hepatite B. Use apenas soro, ou plasma com EDTA ou heparina.

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 factos que se possam correlacionar.

Características do Ensaio

Consulte Tabelas e Gráficos para dados *representativos* do desempenho do doseamento. Os resultados são apresentados em mIU/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.)

Calibração: 3–2000 mIU/mL
(WHO 1st IRP 26-1-77)

Sensibilidade Analítica: ≤ 3,0 mIU/mL

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

Bilirrubina: A presença de bilirubina não conjugada em concentrações até 400 mg/L não tem efeito no procedimento dentro da precisão do ensaio.

Hemólise: pode interferir com o doseamento causando resultados inconsistentes ou errados. (Ver a tabela de “Hemolysis”.)

Lipémia: A presença de trigliceridos iem concentrações até 3000 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Tipo de amostra alternativa: O sangue foi colhido em para tubos de contenção a vácuo EDTA, heparinizados e simples (n = 46).

(Heparina) = 1,03 (Soro) + 14 mIU/mL
r = 0,97

(EDTA) = 1,05 (Soro) + 16 mIU/mL
r = 0,88

Médias:
350 mIU/mL (Soro)
376 mIU/mL (Heparina)
384 mIU/mL (EDTA)

Comparação de métodos 1: O doseamento HBs IMMULITE 2000 foi comparado com o Anti-HBs IMMULITE em 59 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 3–2000 mIU/mL. Ver gráfico “Method Comparison 1”.) Regressão linear:

(IML 2000) = 1,00 (IML) – 3,4 mIU/mL
r = 0,993

Médias:
343 mIU/mL (IMMULITE 2000)
346 mIU/mL (IMMULITE)

Comparação de métodos 2:
O IMMULITE 2000 Anti-HBs foi comparado com o imunoensaio Elecsys Anti-HBs em 775 amostras, constituidas por paineis de seroconversão, amostras capazes de provocar reacções cruzadas, amostras de doentes com infecção anterior por HBV, de individuos vacinados e doentes hospitalizados, e amostras de rotina. A tabela seguinte mostra os resultados deste estudo.

	No. de Amostras					
	anti-HBs Reativo	anti-HBs Não reativo	Sensibil-idade	Especifi-cidade	PPV	NPV
IMMULITE 2000 Anti-HBs						
Reativo	386	1	99,5%	99,7%	99,7%	99,5%
Não reativo	2	386				
Elecsys Anti-HBs						
Reativo	383	5	99,0%	98,7%	98,7%	99,0%
Não reativo	4	383				

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

siemens.com/healthcare

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE is a trademark of Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2008 Siemens Healthcare Diagnostics. All rights reserved.

Made in: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

CE 0197

2019-07-16

PIL2KAH – 37

cc#EU23606, cc#EU23606A

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol Definition

IVD

En: *In vitro* diagnostic medical device
De: Medizinisches Gerät zur In-vitro Diagnose
Es: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
Fr: Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
It: Dispositivo medico per diagnostica *in vitro*
Pt: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

REF

En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo

En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante

EC REP

En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia

Symbol Definition

En: CE Mark
De: CE-Kennzeichen
Es: Marca CE
Fr: Marque CE
It: Marchio CE
Pt: Marca CE

En: CE Mark with identification number of notified body
De: CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle
Es: Marca CE con número de identificación del organismo notificado
Fr: Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié
It: Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato
Pt: Marca CE, com número de identificação do organismo notificado

En: Consult instructions for use
De: Bedienungshinweise beachten
Es: Consulte las instrucciones de uso
Fr: Consulter le mode d'emploi
It: Consultare le istruzioni per l'uso
Pt: Consulte as instruções de utilização

En: Caution! Potential Biohazard
De: Vorsicht! Biologisches Risikomaterial
Es: ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial
Fr: Avertissement ! Risque biologique potentiel
It: Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico
Pt: Atenção! Potenciais Riscos Biológicos

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

Symbol Definition

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

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

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

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

En: Keep away from sunlight
De: Vor Sonneneinstrahlung schützen
Es: Proteger de la luz solar
Fr: Maintenir hors de portée de la lumière du soleil
It: Non esporre alla luce del sole
Pt: Manter afastado da luz solar

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

Symbol	Definition
	**En:** Contains sufficient for (n) tests **De:** Es reicht für (n) Tests **Es:** Contiene suficiente para (n) pruebas **Fr:** Contient du matériel suffisant pour (n) tests **It:** Contiene materiale sufficiente per (n) test **Pt:** Contém o suficiente para (n) testes
2008-01	**En:** Date format (year-month) **De:** Datumsformat (Jahr-Monat) **Es:** Formato de fecha (año-mes) **Fr:** Format de la date (année-mois) **It:** Formato data (anno-mese) **Pt:** Formato de data (ano-mês)
	**En:** Use by **De:** Verwendbar bis **Es:** Fecha de caducidad **Fr:** A utiliser avant **It:** Usare entro **Pt:** Usar até
	**En:** Health Hazard **De:** Gesundheitsgefährdung **Es:** Peligro para la salud **Fr:** Dangereux pour la santé **It:** Pericolo per la salute **Pt:** Perigo para a saúde
	**En:** Exclamation Mark **De:** Ausrufezeichen **Es:** Signo de exclamación **Fr:** Point d'exclamation **It:** Punto esclamativo **Pt:** Ponto de exclamação
	**En:** Corrosion **De:** Korrosion **Es:** Corrosión **Fr:** Corrosion **It:** Corrosione **Pt:** Corrosão
	**En:** Skull and Crossbones **De:** Totenkopf mit gekreuzten Knochen **Es:** Calavera y tibias cruzadas **Fr:** Tête de mort sur tibias croisés **It:** Teschio e tibie incrociate **Pt:** Caveira sobre tíbias cruzadas
	**En:** Environment **De:** Umwelt **Es:** Medio ambiente **Fr:** Environnement **It:** Ambiente **Pt:** Ambiente

Symbol	Definition
BEAD PACK	**En:** Bead Pack **De:** Kugel-Container **Es:** Cartucho de bolas **Fr:** Cartouche de billes **It:** Contenitore di biglie **Pt:** Embalagem de esferas
TEST UNIT	**En:** Test Unit **De:** Testeinheit **Es:** Unidades de análisis **Fr:** Unité de test **It:** Test Unit **Pt:** Unidades de Teste
REAG WEDGE **REAG WEDGE A** **REAG WEDGE B** **REAG WEDGE D**	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste

Symbol	Definition
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL CONTROL 1 CONTROL 2 CONTROL 3	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo

Symbol	Definition
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

Anti-TG Ab

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 Anti-TG Ab

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the quantitative measurement of autoantibodies to thyroglobulin (TG) in serum, EDTA, and heparinized plasma, as an aid in the clinical diagnosis of thyroid diseases.

Catalog Number: **L2KTG2** (200 tests)
L2KTG6 (600 tests)
Test Code: **ATG** Color: **Orange**

Summary and Explanation

Thyroglobulin is produced only by the thyroid gland and is a major component of the thyroid follicular colloid. The thyroid hormones 3,5,3',5',-tetraiodothyronine (thyroxine, T4) and 3,5,3'-triiodothyronine (T3) are synthesized from thyroglobulin.[21]

Autoantibodies to thyroglobulin (TG autoantibodies) are often present in patients with autoimmune thyroid disease. Approximately 10 percent of healthy individuals have TG autoantibodies at low levels; higher concentrations are found in 30 and 85 percent of patients with Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis, respectively.[10] Elevated levels of antibodies to thyroid peroxidase (TPO autoantibodies) occur more frequently than high anti-TG levels in these diseases, however; anti-TG determinations therefore do not seem to add to the diagnostic information provided by anti-TPO results.[5]

TG autoantibody measurements are most useful for evaluating samples submitted for thyroglobulin measurements because TG autoantibodies can interfere with both competitive immunoassays and immunometric assays for thyroglobulin.[19]

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 Anti-TG Ab is a solid-phase, enzyme-labeled, chemiluminescent sequential immunometric assay.

Incubation Cycles: 2 × 30 minutes
Time to first result: 65 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 Anti-TG Ab 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: 5 µL sample

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

Automatic Predilution Factor: 100

Dispense required volume of diluent (L2AAZ) to a suitable test tube with barcode label applied.

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.



CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD
Contains human source material. Each donation of human blood or blood component was tested by FDA-approved methods for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) as well as for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis C virus (HCV). The test results were negative (not repeatedly reactive). No test offers complete assurance that these or other infectious agents are absent; this material should be handled using good laboratory practices and universal precautions.[23-25]

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.





H311, H302, H411

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

Danger! Toxic in contact with skin. Harmful if swallowed. Toxic to aquatic life with long lasting effects. Wear protective gloves/ protective clothing/eye protection/face protection. Avoid release to the environment. IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell. IF ON SKIN: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell. Dispose of contents and container in accordance with all local, regional, and national regulations.
Contains: 2-methyl-2H-isothiazol-3-one, sodium azide; Anti-TG Ab Adjustors

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.

Anti-TG Ab Bead Pack (L2TG12)
With barcode. 200 beads, coated with highly purified thyroglobulin. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KTG2: 1 pack **L2KTG6:** 3 packs

Anti-TG Ab Reagent Wedge (L2TGA2)
With barcode. 11.5 mL buffer matrix. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to monoclonal murine anti-human IgG antibody in buffer, with preservative. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KTG2: 1 wedge **L2KTG6:** 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.

Anti-TG Ab Adjustors (LTGL, LTGH)
Two vials (Low and High), of lyophilized TG autoantibodies in a human serum/buffer matrix, with preservative. At least 30 minutes before use, reconstitute each vial by adding **4.0 mL** distilled or deionized water. Mix by *gentle* swirling or inversion until the lyophilized material is fully dissolved. (No further dilution is required.) Aliquot and freeze in tightly capped plastic containers. Avoid repeated freeze/thaw cycles. Stable at 2–8°C for 7 days after reconstitution, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KTG2: 1 set **L2KTG6:** 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.

Thyroid Autoantibody Sample Diluent (L2AAZ)
Test code: **TAD**. For the on-board dilution of patient samples. 50 mL concentrated (ready-to-use) anti-TG/anti-TPO antibody-free buffer matrix, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KTG2: 1 vial **L2KTG6:** 3 vials

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.
L2KTG2: 3 labels **L2KTG6:** 5 labels

Kit Components Supplied Separately

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate
L2PWSM: Probe Wash
L2KPM: Probe Cleaning Kit
LRXT: Reaction Tubes (disposable)
L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

LAACM: Bi-level control module

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 Systems Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Systems 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 TG and TPO autoantibodies.

Expected Values

Based on its relationship to IMMULITE Anti-TG Ab (see Method Comparison), the assay can be expected to have essentially the same reference ranges.

Serum samples with normal TSH and free T4 levels from 117 apparently healthy adults with no history of thyroid disease were processed using the IMMULITE Anti-TG Ab assay. The results showed a 95th percentile of approximately 40 IU/mL, suggesting a *preliminary* reference range for adults of

Nondetectable to 40 IU/mL.

Thirty-four serum samples from Graves' disease patients and 36 serum samples from Hashimoto's disease patients were tested using the IMMULITE Anti-TG Ab assay. Fourteen out of 34 Graves' disease samples (41%) and 25 out of 36 Hashimoto's disease samples (69%) had elevated anti-TG antibody levels.

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

Limitations

For diagnostic purposes, anti-TG results should be used in conjunction with other test results, the overall clinical presentation to the physician, and all other approriate information.

Heterophilic antibodies in human serum can react with the immunoglobulins included in the assay components causing interference with *in vitro* immunoassays. [See Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34:27-33.] Samples from patients routinely exposed to animals or animal serum products can demonstrate this type of interference potentially causing an anomalous result. These reagents have been formulated to minimize the risk of interference; however, potential interactions between rare sera and test components can occur. For diagnostic purposes, the results obtained from this assay should always be used in combination with the clinical examination, patient medical history, and other findings.

Performance Data

See Tables and Graphs for data *representative* of the assay's performance. Results are expressed in IU/mL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Reportable Range: 20–3000 IU/mL (WHO 1st IRP 65/93)

Analytical Sensitivity: 2.2 IU/mL

Hook Effect: None up to 55,552 IU/mL

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

Linearity: Samples were assayed under various dilutions. (See “Linearity” table for representative data.) Due to the heterogeneity of TG autoantibodies, certain samples may not maintain dilutional parallelism in the IMMULITE 2000 Anti-TG Ab procedure.

Recovery: Samples spiked 1 to 19 with three anti-TG Ab solutions (200, 800, and 2000 IU/mL) were assayed. (See “Recovery” table for representative data.)

Bilirubin: Presence of 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 381 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 4000 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 21 volunteers into plain, heparinized, EDTA and Becton Dickinson SST® vacutainer tubes. Equal volumes of the matched samples were spiked with various concentrations of Anti TG Ab, to obtain values throughout the calibration range of the assay, and then assayed by the IMMULITE 2000 Anti-TG Ab procedure.

(Heparin) = 1.05 (Serum) – 11 IU/mL
r = 0.998

(EDTA) = 1.02 (Serum) – 2.6 IU/mL
r = 0.988

(SST) = 1.07 (Plain Tubes) – 12 IU/mL
r = 0.993

Means:
752 IU/mL (Serum)
779 IU/mL (Heparin)
767 IU/mL (EDTA)
795 IU/mL (SST)

Method Comparison: The assay was compared to IMMULITE Anti-TG Ab on 178 samples. (Concentration range: approximately 20 to 2500 IU/mL. See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 1.1 (IML) – 21 IU/mL
r = 0.959

Means:
297 IU/mL (IMMULITE 2000)
290 IU/mL (IMMULITE)

References

1) Becker W, Reimers C, Börner W. Immunological criteria for the differential diagnosis of thyroid disease. Therapiewoche 1985;35:1167-76. 2) Czarnocka B, Ruf J, Ferrand M, et al. Purification of the human thyroid peroxidase and its identification as the microsomal antigen involved in autoimmune thyroid diseases. FEBS Lett 1985;190:147-52. 3) Czarnocka B, Ruf J, Ferrand M, et al. Interaction of highly purified thyroid peroxidase with anti-microsomal antibodies in autoimmune thyroid diseases. J Endocrinol Invest 1986;9:135-8. 4) Falk U, et al. Radioimmunoassay for serum thyroglobulin designed for early detection of metastases and recurrences in the follow-up of patients with differentiated thyroid carcinoma. J Clin Chem Clin Biochem 1984;22:661-70. 5) Feldt-Rasmussen U. Serum thyroglobulin and thyroglobulin autoantibodies in thyroid diseases. Allergy 1983;38:369-87. 6) Gons MH, et al. Concentration of plasma thyroglobulin and urinary excretion of iodinated material in the diagnosis of thyroid disorders in congenital hypothyroidism. Acta Endocrinol 1983;104:27-34. 7) Hashimoto H. Understanding the lymphatic changes of the thyroid. Arch Klin Chir 1912;97:219-48. 8) Horster FA. The importance of MAK, TAK, TRAK and thyroglobulin in the diagnosis of thyroid disease. Internist 1988;29:538-40. 9) Ket JL, et al. Serum thyroglobulin levels: physiological decrease in infancy and the absence in athyroidism. J Clin Endocrinol Metab 1981;58:1301-3. 10) Larsen PR, Ingbar SH. The thyroid gland. In: Wilson JD, Foster DW, editors. Williams textbook of endocrinology. 8th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1992: 357-487. 11) Libert F, Ruel J, Ludgate M, et al. Thyroperoxidase, an auto-antigen with a mosaic structure made of nuclear and mitochodrial gene modules. EMBO J 1987;6:4193-6.12) McKenzie JM, Zakarija M, Sato A. Humoral immunity in Graves' disease. Clin Endocrinol Metab 1978;7:1-45. 13) Ruf J, Czarnocka B, Ferrand M, et al. Thyroid peroxidase is the organ-specific 'microsomal' antigen involved in thyroid autoimmunity. Acta Endocrinol (Copenh) 1987; Suppl. 281:49-55. 14) Ruf J, Czarnocka B, Ferrand M, et al. Relationship between immunological structure and biochemical

properties of human thyroid peroxidase. Endocrinol 1988;125(3):1211-8. 15) Schatz H, Löbig H. The diagnostic and prognostic importance of antibodies against thyroid microsomes and thyroglobulin. Akt Endokr Stoffw 1989;10:146-53. 16) Scherbaum WA, Berg PA. The importance of autoantibodies in the diagnosis of endocrine disease. Dtsch Med Wschr 1981;106:308-13. 17) Scherbaum WA, Berg PA. Thyroid autoimmune disease – new aspects in development and diagnosis. Dtsch Med Wschr 1984;109:1574-81. 18) Spencer CA, Wang C-C. Thyroglobulin measurement: techniques, clinical benefits, and pitfalls. Endocrinol Metab Clin North Am 1995;24:841-63. 19) Spencer CA, Takeuchi M, Kazarosyan M. Current status and performance goals for serum thyroglobulin assays. Clin Chem 1996;42:164-73. 20) Spencer CA. Recoveries cannot be used to authenticate thyroglobulin (Tg) measurements when sera contain Tg autoantibodies. Clin Chem 1996;42:661-3. 21) Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz textbook of clinical chemistry. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994. 22) 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. 23) Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. MMWR, 1988;37:377–82, 387–8. 24) Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3. 25) Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030.

Technical Assistance

In the United States, contact Siemens Healthcare Diagnostics Technical Services department. Tel: 877.229.3711. Outside the United States, contact your National Distributor.

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485:2003.

Tables and Graphs

Intraassay Precision (IU/mL)

	Mean[1]	SD[2]	CV[3]
1	40	3.2	8.0%
2	210	11.2	5.3%
3	950	64.5	6.8%
4	2390	199.6	8.4%

Interassay Precision (IU/mL)

	Mean[1]	SD[2]	CV[3]
1	40	4.8	11.9%
2	210	14.0	6.7%
3	950	89.6	9.4%
4	2390	241.0	10.1%

Linearity (IU/mL)

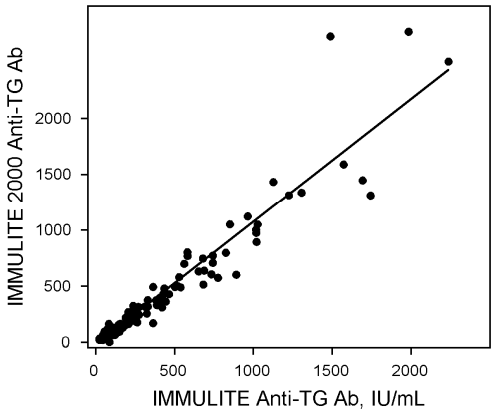
	Dilution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	8 in 8[5]	130	—	—
	4 in 8	69	65	106%
	2 in 8	33	33	100%
	1 in 8	17	16	106%
2	16 in 16	319	—	—
	8 in 16	166	160	104%
	4 in 16	82	80	103%
	2 in 16	41	40	103%
	1 in 16	20	20	100%
3	16 in 16	340	—	—
	8 in 16	172	170	101%
	4 in 16	94	85	111%
	2 in 16	48	43	112%
	1 in 16	20	21	95%
4	16 in 16	430	—	—
	8 in 16	220	215	102%
	4 in 16	109	108	101%
	2 in 16	55	54	102%
	1 in 16	26	27	96%

	Dilution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
5	16 in 16	754	—	—
	8 in 16	382	377	101%
	4 in 16	201	189	106%
	2 in 16	98	94	104%
	1 in 16	48	47	102%

Recovery (IU/mL)

	Solution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	—	49	—	—
	A	193	265	73%
	B	657	773	85%
	C	2288	2216	103%
2	—	59	—	—
	A	218	274	80%
	B	695	783	89%
	C	2165	2225	97%
3	—	120	—	—
	A	278	333	84%
	B	819	841	97%
	C	2358	2287	103%
4	—	146	—	—
	A	277	375	74%
	B	766	891	86%
	C	2323	2292	101%
5	—	230	—	—
	A	391	437	90%
	B	935	946	99%
	C	2357	2388	99%

Method Comparison



(IML 2000) = 1.1 (IML) – 21 IU/mL
r = 0.959

Deutsch. **Intraassay Precision, Interassay Precision**: [1]Mittelwert, [2]S (Standardabweichung), [3]CV (Variationskoeffizient). **Linearity**: [1]Verdünnung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Lösung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E.

Español. **Intraassay Precision, Interassay Precision**: [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV. **Linearity**: [1]Dilución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 en 8. **Recovery**: [1]Solución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E.

Français. Intraassay Precision, Interassay Precision: [1]Moyenne, [2]DS, [3]CV. **Linéarité**: [1]Dilution, [2]Observée (O), [3]Attendue (A), [4]%O/A, [5]8 dans 8. **Test de récupération**: [1]Solution, [2]Observée (O), [3]Attendue (A), [4]%O/A.

Italiano. **Intraassay Precision, Interassay Precision**: [1]Media, [2]SD (Deviazione Standard), [3]CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity**: [1]Diluizione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Soluzione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A.

Português**. Intraassay Precision, Interassay Precision**: [1]Média, [2]Desvio padrão, [3]Coeficiente de variação. **Linearity**: [1]Diluição, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 em 8. **Recovery**: [1]Solução, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E.

Deutsch

Anti-TG

Anwendung: Zur *In-vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme — zur quantitativen Messung von Autoantikörpern gegen Thyreoglobulin im Serum, EDTA- und Heparinplasma als Hilfestellung für die Diagnose von Erkrankungen der Schilddrüse.

Artikelnummern:
L2KTG2 (200 Tests) **L2KTG6** (600 Tests)

Testcode: **ATG** Farbe: **orange**

Klinische Relevanz

Thyreoglobulin wird nur im Schilddrüsengewebe gebildet und ist ein wesentlicher Bestandteil des Follikellumens (Kolloid). Die Schilddrüsenhormone 3,5,3′,5′-Tetraiodthyronin und 3,5,3′ Triiodthyronin werden am Thyreoglobulin synthetisiert.[21]

Autoantikörper gegen Thyreoglobulin (Tg-Autoantikörper) werden häufig in Patienten mit Schilddrüsenautoimmunerkrankungen nachgewiesen. In der gesunden Population werden bei ca. 10% leicht erhöhte Tg-Autoantikörperspiegel gefunden; hohe Konzentrationen werden bei 30–85% der Patienten mit Morbus Basedow und Hashimoto Thyreoiditis gefunden.[10] Bei diesen Erkrankungen werden häufiger erhöhte Spiegel von Autoantikörpern gegen die Thyreoperoxidase (TPO Autoantikörper) als erhöhte Tg-Autoantikörperkonzentrationen beobachtet. Aus diesem Grund liefert die Bestimmung der Tg-Autoantikörper gegenüber der Bestimmung der TPO-Antikörper keine zusätzliche klinische Information.[5]

Wichtig ist die Bestimmung der Tg-Autoantikörper bei der Bestimmung der Thyreoglobulinkonzentration in Patientenproben, da Tg-Autoantikörper sowohl mit kompetitiven wie auch Sandwichimmunoassays interferieren können.[19]

Methodik

IMMULITE 2000 Anti-TG ist ein sequentieller Festphasen-Chemiluminiszenz- immunometrischer Assay.

Inkubationszyklen: 2 × 30 Minuten
Zeit zum ersten Ergebnis: 65 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 zurückhaltend zu interpretieren.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter Antikoagulantientherapie können eine verlängerte Gerinnungszeit aufweisen.

Blutentnahmeröhrchen von verschiedenen Herstellern können differierende Werte verursachen. Dies hängt von den verwendeten Materialien und Additiven (Gel oder physische Trennbarrieren, Gerinnungsaktivatoren und /oder Antikoagulantien) ab. IMMULITE 2000 Anti-TG sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel „Alternative Probenarten“ zu entnehmen.

Erforderliches Volumen: 5 µl Probe

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

Faktor für automatische Vorverdünnung: 100

Bitte vor Gebrauch ein Probenröhrchen mit ausreichender Menge Verdünnungspuffer (L2AAZ) und dem entsprechenden Barcode versehen.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *In-vitro*-Diagnostik.



VORSICHT! BIOLOGISCHES RISIKOMATERIAL
Enthält Material humanen Ursprungs. Alle Blutspenden oder Blutkomponenten menschlicher Herkunft wurden nach FDA-genehmigten Methoden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die HI-Viren Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2) sowie von Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und Antikörpern gegen den Hepatitis C-Virus (HCV) getestet. Die Testergebnisse waren negativ (nicht wiederholt reaktiv). Durch keinen Test kann das Vorhandensein dieser oder anderer infektiöser Stoffe vollständig ausgeschlossen werden. Dieses Material ist mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und gemäß der allgemein anerkannten guten Laborpraxis zu handhaben.[23-25]

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.





H311, H302, H411

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

Gefahr! Giftig bei Hautkontakt. Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. Giftig für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/ Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen. Freisetzung in die Umwelt vermeiden. BEI VERSCHLUCKEN: Bei Unwohlsein GIFT-INFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONS-ZENTRUM oder Arzt anrufen. Inhalt und Behälter sind in Übereinstimmung mit den gesetzlichen Bestimmungen zu entsorgen.
Enthält: 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on, Natriumazid; Anti-TG Ab Kalibratoren

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.

Anti-TG Ab Kugel-Container (L2TG12)
Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit gereinigtem Thyreoglobulin. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KTG2: 1 Container
L2KTG6: 3 Container

Anti-TG Ab - Reagenzbehälter (L2TGA2)
Barcodiert, Reagenz-Container enthält 11,5 ml Puffer-Matrix, sowie 11,5 ml alkalische Phosphatase (Kalb) konjugiert mit monoklonalem Anti-humanen IgG (Maus) in einem Puffer (mit Konservierungsmittel). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KTG2: 1 Behälter **L2KTG6:** 3 Behälter

Vor Gebrauch den Aufkleber vorsichtig an der Perforation abreißen, ohne dabei die Barcodierung zu beschädigen. Die Folie von der Oberseite des Containers entfernen. Bei Einsetzen in das System

den Schiebedeckel nach unten in die Führung des Reagenziendeckels einrasten lassen.

Anti-TG Ab Kalibratoren (LTGL, LTGH)
Zwei Fläschchen jeweils (niedrig und hoch) mit lyophilisiertem TG Autoantikörper in humaner Serum-Puffer-Matrix (mit Konservierungsmittel). Mindestens 30 min. vor dem Gebrauch, fläschchen mit **4,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. Zum Mischen leicht schwenken oder umdrehen, bis das gefriergetrocknete Material vollständig aufgelöst ist. (Muss nicht weiter verdünnt werden.) In fest verschlossenen Plastikbehältern aliquotieren und *einfrieren.* Wiederholtes Einfrieren/Auftauen vermeiden. Nach Rekonstituierung 7 Tage bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KTG2: 1 Set **L2KTG6:** 2 Sets

Zur Kalibrierung die dem Kit beiliegenden Aufkleber auf Röhrchen kleben, die Kalibratoren umfüllen und in das Gerät stellen, so dass die Barcodes vom Barcodereader des Systems eingelesen werden können.

Thyroid Autoantikörper – Verdünnungspuffer (L2AAZ)
Testcode: **TAD**. Zum automatischen Verdünnen der Patientenproben. 50 ml konzentrierte (gebrauchsfertig) Anti-TG/Anti-TPO Antikörper-freie Puffer-Matrix, mit Konservierungsmittel. 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KTG2: 1 fläschchen
L2KTG6: 3 fläschchen

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2KTG2: 3 labels **L2KTG6:** 5 labels

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße
L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm) für die Probenverdünnung
L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

LAACM: Bi-level Kontrollmodul

Ebenfalls benötigt:
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Röhrchen; Kontrollen

Testdurchführung

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

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

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
2 Wochen

Proben zur Qualitätskontrolle:
Kontrollen oder Seren mit TG und TPO Autoantikörpern in zumindest zwei Konzentrationen (niedrige und hohe) verwenden.

Referenzwerte

In einer vorläufigen Studie des Herstellers basierend auf der Korrelation zum IMMULITE-Anti-TG Ab (siehe *Methoden-vergleich*), wurden folgende Referenzbereiche ermittelt.

117 Proben von gesunden Probanden mit TSH und fT4 Werten im Referenzbereich und keiner bekannten zurückliegenden Schilddrüsenerkrankung wurden mit dem IMMULITE Anti-Tg-Ab Assay untersucht. Anhand der 95. Percentile von ungefähr 40 IU/ml wurde folgender vorläufiger Referenzbereich bestimmt:

nicht nachweisbar – 40 IU/ml

In Serumproben von 34 Patienten mit Morbus Basedow und 36 Patienten mit Hashimoto Thyreoiditis wurden mit dem IMMULITE Anti-Tg-Ab die Tg-Autoantikörperkonzentration bestimmt. In 14 von 34 Proben der Morbus Baedow Proben (41%) und in 25 von 36 der Hashimoto Thyreoiditis Proben (69%)

wurden erhöhte Tg-Autoantikörper-konzentrationen gemessen.

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

Grenzen der Methode

Für den diagnostischen Einsatz sollten die Anti-Tg Ergebnisse nur im Zusammenhang mit zusätzlichen Testergebnissen, den Untersuchungsergebnissen des Arztes und allen anderen verfügbaren Ergebnissen interpretiert werden.

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

Repräsentative Daten zum Test entnehmen Sie bitte den Tabellen und graphischen Darstellungen im englischen Teil dieser Anleitung. Die Ergebnisse sind in IU/ml angegeben. (Sofern nicht anders angegeben, wurden hierfür Serumproben in Röhrchen ohne Geltrennung und Gerinnungshilfen eingesetzt.)

Messbereich: 20–3000 IU/ml
(WHO 1st IRP 65/93)

Analytische Sensitivität: 2,2 IU/ml

High Dose Hook Effekt: Keiner bis zu 55 552 IU/ml

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Testansätzen in Doppelbestimmung gemessen (insgesamt 40 Bestimmungen und 80 Einzel-messungen. (Siehe Tabelle „Präzision“.)

Linearität: Proben wurden in verschiedenen Verdünnungsstufen getestet. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Linearity“.) Aufgrund der Heterogenität der TG Autoantikörper zeigen einzelne Proben keine Verdünnungslinearität mit dem IMMULITE 2000 Anti-TG Ab Assay.

Wiederfindung: Proben wurden mit drei Anti-Tg-Ab Lösungen (200, 800 und 2000 IU/ml) im Verhältnis von 1:19 versetzt. (Siehe Tabelle „Recovery” für repräsentative Daten.)

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

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 381 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Lipämie hat in Konzentrationen bis zu 4000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Alternativer Probentyp: Um die Auswirkungen von verschiedenen Probenarten zu untersuchen, wurde Blut von 21 Freiwilligen in Röhrchen ohne Additiva, in Heparin-, EDTA- und Becton Dickinson SST Vacutainer-Rörchen gesammelt. Gleiche Volumina der jeweiligen Proben wurden mit verschiedenen Konzentrationen an Anti-TG versetzt, um Werte im gesamten Kalibrationsbereich zu erhalten, und die Proben anschließend mit dem IMMULITE 2000 Assay für Anti-Tg-Ab gemessen.

(Heparin) = 1,05 (Serum) – 11 IU/ml
r = 0,998

(EDTA) = 1,02 (Serum) – 2,6 IU/ml
r = 0,988

(SST) = 1,07 (einfachen Röhrchen) – 12 IU/ml
r = 0,993

Mittelwert:
752 IU/ml (Serum)
779 IU/ml (Heparin)
767 IU/ml (EDTA)
795 IU/ml (SST)

Methodenvergleich: Der Assay wurde auf der Basis von 178 Patientenproben mit dem IMMULITE Anti-TG Ab Assay verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 20 bis 2500 IU/ml. Siehe Grafik.) Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 1,1 (IML) – 21 IU/ml
r = 0,959

Mittelwert:
297 IU/ml (IMMULITE 2000)
290 IU/ml (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485:2003.

Español

Anti-TG

Utilidad del análisis: Para su uso en el diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE 2000 — para la medición cuantitativa de Anticuerpos Anti-TG en suero, EDTA, y plasma heparinizado, siendo una herramienta util en el diagnostico de las enfermedades tiroideas.

Números de Catálogo:
L2KTG2 (200 tests) **L2KTG6** (600 tests)

Código del Test: **ATG** Color: **Naranja**

Resumen y Explicación del Test

La Tiroglobulina es producida por la glandula tiroidea y es el mayor componente del coloide folicular de la glandula tiroidea. Las hormonas tiroideas 3,5,3',5',-tetraiodotironina (tirosina, T4) y 3,5,3'-triiodotironina (T3) son sintetizadas en la tiroglobulina.[21]

Los autoanticuerpos frente a la tiroglobulina (anti-TG) estan presentes en pacientes con enfermedades tiroideas autoinmunes. Aproximadamente el 10% de individuos sanos tienen bajos niveles de autoanticuerpos frente a TG; elevadas concentraciones son encontradas en el 30 y 85% de los pacientes con la enfermedad de Graves y tiroiditis de Hashimoto, respectivamente.[10] Los niveles elevados de autoanticuerpos frente a la peroxidasa tiroidea (anti-TPO), se producen con más frecuencia en estas enfermedades que los niveles altos de anti-TG; de esta manera, las determinaciones de anti-TG no añadirian mas información diagnostica a los resultados obtenidos por los anti-TPO.[5]

Las determinaciones de anti-TG son tambien útiles para evaluar muestras en las que se mida la Tiroglobulina debido a que los anticuerpos anti-TG pueden interferir tanto en ensayos competitivos e inmunometricos para Tiroglobulina.[19]

Principio del análisis

IMMULITE 2000 Anti-TG es un ensayo inmunométrico enzimático secuencial en fase sólida por quimioluminiscencia.

Ciclos de incubación: 2 × 30 minutos
Tiempo hasta el primer resultado:
65 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 centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El Anti-TG 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: 5 µl de muestra

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

Factor de Predilución automático: 100

Dispensa automaticamente el volumen requerido de diluyente (L2AAZ) desde desde el tubo con la etiqueta correspondiente de codigo de barras.

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.



¡PRECAUCIÓN! RIESGO BIOLÓGICO POTENCIAL
Contiene material de origen humano. Cada donación de sangre humana o componente sanguíneo ha sido probada por métodos aprobados por la FDA con el fin de detectar la presencia de anticuerpos de los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2), así como el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y el anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (VHC). Los resultados de estas pruebas fueron negativos (no repetidamente reactivos). Ninguna prueba ofrece total garantía de que en las muestras no haya estos agentes infecciosos u otros; por tanto, este material se deberá manipular conforme a las prácticas recomendables de laboratorio y las precauciones universales.[23-25]

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.





H311, H302, H411

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

¡Peligro! Tóxico en contacto con la piel. Nocivo en caso de ingestión. Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. Llevar guantes/prendas/gafas/ máscara de protección. Evitar su liberación al medio ambiente. EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico en caso de malestar. EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Llamar a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico en caso de malestar. Eliminar el contenido y el recipiente de acuerdo con las normativas locales, regionales y nacionales.
Contiene: 2-metil-2H-isotiazol-3-ona, azida de sodio; Ajustadores de Anticuerpos Anti-TG

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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las canerias de cobre y plomo.

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

Agua: Usar agua destilada o desionizada.

Materiales Suministrados

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

Cartucho de bolas de Anticuerpos Anti-TG (L2TG12)
Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con tiroglubulina altamente purificada. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KTG2: 1 cartucho
L2KTG6: 3 cartuchos

Vial de reactivo de Anticuerpos Anti-TG (L2TGA2)
Con códigos de barras. 11,5 ml buffer matriz. 11,5 ml fosfatasa alcalina (intestino bovino) conjugada a un anticuerpo monoclonal de ratón anti-IgG humana en buffer, con conservante. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KTG2: 1 vial **L2KTG6:** 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 Anticuerpos Anti-TG (LTGL, LTGH)
Dos viales (bajo y alto), con anti-TG en una matriz de suero/buffer humano, con conservante. 30 minutos, como mínimo, antes de su uso, reconstituya cada vial con **4,0 ml** de agua destilada o desionizada. Mezcle por agitación o inversión suave hasta que se haya disuelto completamente el material liofilizado. (No es necesaria ninguna dilución más.) Alicuotar y *congelar* en recipientes plásticos bien cerrados. Evitar las congelaciones y descongelaciones repetidas. Estable a 2–8°C durante 7 días, después de la reconstitución, o estable a –20°C durante 6 meses (alicuotados).
L2KTG2: 1 juego **L2KTG6:** 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.

Diluyente para Anticuerpos Antitiroideos (L2AAZ)
Codigo: **TAD**. Para la dilución de las muestras del paciente que van a analizarse. 50 ml de un concentrado de una matriz tamponada sin anticuerpos anti-TG/anti-TPO (listo para su uso) con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KTG2: 1 vial **L2KTG6:** 3 vials

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 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2KTG2: 3 etiquetas
L2KTG6: 5 etiquetas

Componentes del kit que se suministran por separado

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 × 100 mm)
L2ZC: 250 Casquillos Del Tubo Del Diluyente De la Muestra

LAACM: Dos niveles de control

También necesarios
Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles.

Ensayo

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

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:
2 semanas

Muestras de Control de Calidad: Utilizar controles o pooles de sueros con al menos dos niveles diferentes de anti-TG y anti-TPO autoanticuerpos (bajo y alto).

Valores Esperados

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

Muestras de suero con TSH y niveles de T4 libre normales de 117 adultos sanos sin historial de enfermedades tiroideas, fueron procesadas usando el ensayo para Anticuerpos Anti-TG IMMULITE. Los resultados mostraron aproximadamente 40 IU/ml para un percentil 95%, lo que sugería un rango preliminar en adultos de

No detectable a 40 IU/ml.

34 muestras de suero de pacientes con la enfermedad de Graves y 36 sueros de pacientes con la enfermedad de Hashimoto fueron testados usando el ensayo para Anticuerpos Anti-TG IMMULITE. 17 de los 34 con la enfermedad de Graves (41%) y 25 sobre los 36 con la enfermedad de Hashimoto (69%) mostaron elevados niveles de anticuerpos anti-TG.

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

Limitaciones

Para uso diagnostico exclusivamente, los resultados anti-TG deberían ser usados en combinación con otras determinaciones, y los resultados clinicos ser presentados al medico con toda la información oportuna.

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

Características Analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo ver las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en IU/ml. (A 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.)

Rango informable: 20–3000 IU/ml (WHO 1st IRP 65/93)

Sensibilidad Analítico: 2,2 IU/ml

Efecto de gancho a altas dosis: Ninguno hasta 55 552 IU/ml

Precisión: Las muestras fueron procesadas por duplicado durante 20 días, en dos series al día, para un total de 40 series y 80 replicados. (Véase la tabla “Precisión”.)

Linealidad: Las muestras fueron analizadas en varias diluciones. (Ver la tabla de “Linearity” para resultados representativos.) Debido a la heterogenicidad de los autoanticuerpos frente a la TG, ciertas muestras pueden no mantener un paralelismo en las diluciones utilizando el kit IMMULITE 2000 Anti-TG.

Recuperación: Se analizaron muestras sobrecargadas 1 en 19 con tres Anti-TG soluciones (200, 800 y 2000 IU/ml). (Ver la tabla de “Recovery” para resultados representativos.)

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina, en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Hemolisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 381 mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Lipemia: La presencia de triglicéridos en concentraciones hasta 4000 mg/dl no tiene efecto alguno en los resultados, en lo correspondiente a la precisión del ensayo.

Tipo de Muestra Alternativa: para evaluar el efecto de los diferentes tipos de muestras alternativos, se recogió sangre de 21 voluntarios en tubos normales, tubos con Heparina, tubos con EDTA y tubos vacutainer SST de Becton Dickinson. Volúmenes iguales de las diferentes muestras fueron sobrecargadas con diferentes concentraciones de Anti-TG, con la finalidad de cubrir todo el rango de calibración del ensayo, y procesadas con el procedimiento Anti-TG IMMULITE 2000.

(Heparina) = 1,05 (Suero) – 11 IU/ml
r = 0,998

(EDTA) = 1,02 (Suero) – 2,6 IU/ml
r = 0,988

(SST) = 1,07 (tubos simples) – 12 IU/ml
r = 0,993

Medias:
752 IU/ml (Suero)
779 IU/ml (Heparina)
767 IU/mL (EDTA)
795 IU/ml (SST)

Comparación del Método: El ensayo fue comparado con el IMMULITE Anticuerpos Anti-TG en 178 muestras. (Rango de Concentración: aproximadamente 20 a 2500 IU/ml. Ver el gráfico.) Por regresión linear:

(IML 2000) = 1,1 (IML) – 21 IU/ml
r = 0,959

Medias:
297 IU/ml (IMMULITE 2000)
290 IU/ml (IMMULITE)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485:2003.

Français

IMMULITE 2000 Anti-Tg

Domaine d'utilisation : Dosage quantitatif des anticorps dirigés contre la thyroglobuline (Tg) dans le sérum et le plasma EDTA ou hépariné. Ce test est réservé à un usage diagnostique *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000 et constitue une aide au diagnostic dans les pathologies thyroïdiennes.

Référence catalogue :
L2KTG2 (200 tests) **L2KTG6** (600 tests)

Code produit : **ATG**
Code couleur : **orange**

Introduction

La Thyroglobuline est seulement produite par la glande thyroïde et est le composant majeur du liquide colloïdal des follicules thyroïdiens. Les hormones thyroïdiennes, la Thyroxine (T4) et la triiodothyronine (T3) sont synthétisées à partir de la Thyroglobuline. [21]

Les autoanticorps anti-thyroglobuline (Anti-Tg) sont souvent présents chez les patients atteints de maladies thyroïdiennes autoimmunes. Environ 10% des sujets sains sont porteurs d'anticorps anti-thyroglobuline à un titre très bas ; des titres plus élevés sont rencontrés respectivement chez 30% à 85% des patients atteints de maladie de Basedow et de thyroïdite d'Hashimoto.[10] Des taux élevés d'anticorps anti-thyropéroxidase thyroïdienne (Anti-TPO) sont plus fréquemment observés que de fortes élévations d'Anti-Tg chez ces mêmes patients. La mise en évidence d'anticorps Anti-Tg dans des échantillons présentant aussi des anti-TPO ne semble pas apporter d'informations diagnostiques supplémentaires.[5]

La recherche des anticorps Anti-Tg est très utile sur les échantillons pour lesquels un dosage de Thyroglobuline a été prescrit car ils peuvent interférer dans le dosage de la thyroglobuline.[19]

Principe du test

L'IMMULITE 2000 Anti-Tg est un test immunométrique séquentiel chimiluminescent par amplification enzymatique, en phase solide.

Cycles d'incubation : 2 × 30 minutes
Temps de rendu du premier résultat : 65 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 dûs 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 Anti-Tg 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 : 5 µl d'échantillon

Conservation : 7 jours à 2–8°C ou 6 mois à –20°C.

Facteur de predilution automatique: 100

Distribuer le volume de diluant (L2AAZ) nécessaire dans le tube avec code-barres correspondant.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.



AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL
Contient du matériel d'origine humaine. Chaque don de sang ou de composant sanguin humain a été testé selon des méthodes homologuées par la FDA afin de détecter la présence d'anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2), ainsi que la présence d'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) et d'anticorps anti-virus de l'hépatite C (VHC). Les résultats de ces tests se sont révélés négatifs (ou positifs mais de façon non répétable). Aucun test ne peut garantir totalement l'absence d'agents infectieux tels que ceux ci ou d'autres. Par conséquent, ce matériel doit être manipulé conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux précautions universelles.[23-25]

ATTENTION : Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.





H311, H302, H411

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

Danger ! Toxique par contact cutané. Nocif en cas d'ingestion. Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. Éviter le rejet dans l'environnement. EN CAS D'INGESTION : Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. Éliminer les contenus et les contenants conformément à toutes les réglementations locales, régionales et nationales.

Contient : 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one, azide de sodium ; Ajusteurs Anti-Tg

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 Anti-Tg (L2TG12)
Avec code-barres. 200 billes revêtues de Thyroglobuline humaine hautement purifiée. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KTG2 : 1 cartouche
L2KTG6 : 3 cartouches

Cartouche à réactif Anti-Tg (L2TGA2)
Avec code-barres. 11,5 ml de matrice tamponnée. 11,5 ml d'anticorps monoclonal murin anti-IgG humaines marqué à la phosphatase alcaline (provenant des intestins de veau) dans un tampon, avec conservateur. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KTG2 : 1 cartouche
L2KTG6 : 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 Anti-Tg (LTGL, LTGH)
2 flacons d'ajusteurs (bas et haut) contenant des auto-anticorps thyroïdiens lyophilisés dans une matrice tampon / sérum humain, avec conservateur.
30 minutes au minimum avant l'emploi, reconstituer chaque flacon avec **4,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Mélanger doucement jusqu'à complète dissolution de la substance lyophilisée. (Aucune dilution supplémentaire n'est requise.) Aliquoter et *congeler* dans des récipients en plastique bien hermétiques. Eviter de multiplier les cycles congélation/ décongélation. Stable à 2–8°C pendant 7 jours après reconstitution, ou 6 mois (aliquoté) à –20 °C.
L2KTG2 : 1 jeu **L2KTG6 :** 2 jeux

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

Diluant Echantillons
Auto-Anticorps Thyroïdiens (L2AAZ)
Code produit : **TAD**. Pour la dilution à bord des échantillons de patients. 50 ml de matrice tamponnée concentrée sans anticorps anti-TPO, ni Anti-Tg, prête à l'emploi, avec conservateur. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KTG2 : 1 flacon **L2KTG6 :** 3 flacons

Les étiquttes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 × 100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2KTG2 : 3 étiquettes
L2KTG6 : 5 étiquettes

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)
L2ZT : 250 Tubes À essai De Diluant échantillon (16 × 100 mm)
L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants
LAACM : Contrôle à deux niveaux

Egalement requis
Eau distillée ou désionisée ; tubes à essai ; contrôles

Protocole de dosage

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

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

Intervalle d'ajustement recommandé : 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) d'anti-Tg et anti-TPO.

Valeurs attendues

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

Des échantillons sériques de 117 sujets apparemment sains, sans antécédents thyroïdiens avec des taux normaux de TSH et de T4 libre, ont été testés avec le test IMMULITE Anti-Tg. Les résultats montrent au 95ème percentile une valeur de 40 UI/ml. Ceci suggère un domaine préliminaire de normalité allant de

Non détectable à 40 UI/ml.

Trente-quatre échantillons de patients atteints de la maladie de Basedow et 36 échantillons sériques de patients atteints de la maladie d'Hashimoto ont été testés avec le test IMMULITE Anti-Tg. Quatorze des 34 échantillons de maladie de Basedow (41%) et 25 des 36 échantillons de la maladie d'Hashimoto (69%) avaient des niveaux élevés d'anticorps anti-Tg.

Ces valeurs sont fournies *à titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

Limites

Dans un but diagnostique, les anticorps Anti-Tg doivent être utilisés en conjonction avec d'autres résultats, les données cliniques recueillies par le médecin et toute autre information appropriée.

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

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en UI/ml. (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.)

Domaine de mesure : 20–3000 UI/ml (OMS 1st IRP 65/93)

Sensibilité analytique : 2,2 UI/ml

Accoutumance aux doses élevées : aucune jusqu'à 55 552 UI/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 ».)

Linéarité : les échantillons ont été testés avec des taux de dilution variés (Voir le tableau « Linearity » pour des données représentatives.) Mais à cause de l'hétérogénéité des auto-anticorps TG, certains échantillons peuvent ne pas maintenir de linéarité avec la méthode IMMULITE 2000 Anti-TG.

Récupération: les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions Anti-Tg (200, 800 et 2000 UI/ml). (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

Bilirubine : La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage 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 381 mg/dl.

Lipémie : La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 4000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

Autres types d'échantillons: pour estimer l'effet de l'utilisation de différents type d'échantillons, 21 volontaires ont été prélevés sur tubes secs, héparinés, EDTA et sur tubes vacutainer SST Becton Dickinson. Des volumes égaux de ces différents échantillons ont été mélangés avec plusieurs concentrations d' Anti-Tg pour obtenir des valeurs à l'intérieur du domaine de mesure du test puis dosés avec le protocole l'IMMULITE 2000 Anti-Tg.

(Héparine) = 1,05 (Sérum) – 11 UI/ml
r = 0,998

(EDTA) = 1,02 (Sérum) – 2,6 UI/ml
r = 0,988

(SST) = 1,07 (tubes ordinaires) – 12 UI/ml
r = 0,993

Moyennes :
752 UI/ml (Sérum)
779 UI/ml (Héparine)
767 UI/ml (EDTA)
795 UI/ml (SST)

Comparaison de méthodes : le test a été comparé au test IMMULITE Anti-Tg sur 178 échantillons (dont les concentrations allaient d'environ 20 à 2500 UI/ml. Voir graphique.) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 1,1 (IML) – 21 UI/ml
r = 0,959

Moyennes :
297 UI/ml (IMMULITE 2000)
290 UI/ml (IMMULITE)

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

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

Italiano

IMMULITE 2000 Anti-Tg Ab

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa di Anticorpi anti-Tireoglobulina nel siero, nel plasma EDTA, ed eparinato, quale ausilio nella diagnosi clinica di patologie tiroidee.

Codice:
L2KTG2 (200 test) **L2KTG6** (600 test)

Codice del Test: **ATG** Colore: **Arancione**

Riassunto e Spiegazione del Test

La Tireoglobulina è prodotta solo dalla ghiandola tiroidea ed è il componente maggiore del colloide follicolare della tiroide. Gli ormoni tiroidei la 3,5,3',5',-tetraiodotironina (tiroxina, T4) e la 3,5,3'-triiodotironina (T3) sono sintetizzate dalla Tireoglobulina.[21]

Gli autoanticorpi anti-Tireoglobulina (autoanticorpi TG) sono spesso presenti in pazienti con malattie tiroidee autoimmuni. Approssimativamente il 10% dei pazienti sani presentano autoanticorpi anti-TG a livelli bassi; concentrazioni più elevate vengono riscontrate nel 30 ed 85% dei pazienti rispettivamente con malattia di Graves e tiroidite di Hashimoto.[10] Livelli elevati di anticorpi anti perossidasi tiroidea (autoanticorpi anti-TPO) si riscontrano in maniera più frequente di quanto non accada per i livelli anti-TG in queste malattie, tuttavia, le determinazioni anti-TG non sembrano aggiungere nulla ai risultati forniti dai test anti-TPO.[5]

La determinazione degli autoanticorpi anti-TG è più utile per la valutazione di campioni sottoposti a test per la tireoglobulina, poiché gli autoanticorpi anti-TG possono interferire sia con gli immunodosaggi competitivi che con i dosaggi immunometrici per la tireoglobulina.[19]

Principio del Dosaggio

Il Dosaggio IMMULITE 2000 Anti-TG è un dosaggio immunometrico sequenziale chemiluminescente in fase solida.

Cicli d'incubazione: 2 × 30 minuti
Tempo al Primo Risultato: 65 minuti

Prelievo del Campione

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

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

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

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. L'IMMULITE 2000 Anti-Tg Ab non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante i Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume richiesto: 5 µL di campione.

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

Fattore Automatico di Pre-Diluizione: 100

Dispensare il volume richiesto di diluente (L2AAZ) in una provetta etichettata con codice a barre.

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.



ATTENZIONE! POTENZIALE PERICOLO BIOLOGICO
Contiene materiale di origine umana. Ciascuna donazione di sangue o componenti ematici umani è stata testata con metodi approvati dalla FDA per rilevare la presenza di anticorpi al virus dell'immunodeficienza umana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2), nonché per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e gli anticorpi al virus dell'epatite C (HCV). I risultati del test sono stati negativi (non ripetutamente reattivi). Nessun test offre assicurazione completa che questi o altri agenti infettivi siano assenti; questo materiale va trattato utilizzando le corrette prassi di laboratorio e le precauzioni universali.[23-25]

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale portatore e trasmettitore di agenti patogeni.





H311, H302, H411

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

Pericolo! Tossico per contatto con la pelle. Nocivo se ingerito. Tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. Non disperdere nell'ambiente. IN CASO DI INGESTIONE: In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. Smaltire il prodotto e il contenitore in conformità con tutte le disposizioni locali, regionali e nazionali.
Contiene: 2-metil-2H-isotiazol-3-one, sodio azide; Calibratori Anti-Tg

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

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati dal sangue umano sono stati testati con esito negativo per la Sifilide, gli anticorpi anti-HIV 1 e 2, l'antigene di Superficie dell'Epatite B e 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 unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

Contenitore di Sferette Anti-Tg (L2TG12)
Con codice a barre. 200 sferette coattate con Tireoglobulina altamente purificata. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KTG2: 1 confezione
L2KTG6: 3 confezioni

Porta Reagente Anti-Tg (L2TGA2)
Con codice a barre. 11,5 mL di una matrice/tampone. 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con un anticorpo monoclonale di topo anti-IgG umane in tampone, con conservanti. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KTG2: 1 porta reagente
L2KTG6: 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.

Calibratori Anti-Tg (LTGL, LTGH)
Due flaconi (Basso ed Alto), con autoanticorpi anti-TG in una matrice umana di siero/tampone, con conservanti. Almeno 30 minuti prima dell'uso, ricostituire ogni flacone con **4,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Mescolare agitando delicatamente o invertendo la miscela finchè il materiale liofilo sia completamente dissolto. (Non è necessaria ulteriore diluizione.) Aliquotare e congelare in contenitori di plastica con coperchio a chiusura ermetica. Evitare cicli di congelamento/scongelamento ripetuti. Stabile a 2–8°C per 7 giorni dopo la ricostituzione o per 6 mesi a –20°C.
L2KTG2: 1 set **L2KTG6:** 2 set

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

Diluente del Campione Anti-Tg (L2AAZ)
Codice del Test: **TAD**. Per la diluizione interna dei campioni dei pazienti. 50 mL di una matrice/tampone priva di anticorpi anti-TG/anti-TPO, concentrata e (pronta all'uso) con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KTG2: 1 flacone **L2KTG6:** 3 flaconi

Vengono fornite le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm cosicchè i codici a barre possano essere letti dal lettore interno.
L2KTG2: 3 etichette
L2KTG6: 5 etichette

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)
L2ZT: 250 Provette (16 x 100 mm) per Diluente del Campione
L2ZC: 250 Tappini per le Provette del Diluente del Campione

LAACM: Controllo a due livelli

Materiali richiesti
Acqua distillata o deionizzata; provette di vetro; controlli.

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 2 settimane

Controllo di Qualità: Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (Alto e Basso) di autoanticorpi anti-TG ed anti-TPO.

Valori Attesi

Data l'affinità con il kit anti-TG Ab IMMULITE (vedi "Comparazione di Metodi") ci si attende che il dosaggio abbia gli stessi range di riferimento.

Sono stati testati con il dosaggio IMMULITE Anti-TG Ab. campioni di siero con TSH normale e livelli di T4 libera provenienti da 117 pazienti adulti in apparente buono stato di salute e con un'anamnesi familiare dove non erano presenti malattie tiroidee. I risultati hanno mostrato un 95°percentile di circa 40 IU/mL, suggerendo un range di riferimento preliminare per gli adulti da

Non rilevabile a 40 IU/mL.

Sono stati testati con il dosaggio IMMULITE Anti-TG Ab 34 campioni di siero provenienti da pazienti affetti da Malattia di Graves e 36 campioni di siero di pazienti affetti da Malattia di Hashimoto. Quattordici dei 34 campioni con Malattia di Graves (41%) e 25 dei 36 campioni con Malattia di Hashimoto (69%) presentavano livelli elevati di anticorpi anti-TG.

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

Limiti

A scopo diagnostico i risultati anti-TG devono essere utilizzati unitamente ad altri risultati, la presentazione globale fatta dal clinico al medico e ad altre informazioni pertinenti.

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 dati *rappresentativi*. I risultati sono indicati in IU/mL. (Laddove non diversamente specificato, tutti i dati sono stati generati su campioni di siero raccolti in provette senza gel separatore o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.)

Range di Riferimento: 20–3000 IU/mL (WHO 1st IRP 65/93)

Sensibilità analitica: 2,2 IU/mL

Effetto Gancio: Nessuno fino a 55 552 IU/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. (Vedere la tabella "Precisione".)

Linearità: Sono stati dosati campioni in varie forme diluite. (Vedi Tabella "Linearity" per dati rappresentativi.) A causa dell'eterogeneità degli autoanticorpi anti-TG, alcuni campioni possono non mantenere il parallelismo delle diluizioni nel dosaggio IMMULITE 2000 Anti-TG Ab.

Recupero: Sono stati dosati campioni 1:19 ai quali sono state aggiunte 3 soluzioni Anti-TG (200, 800 e 2000 IU/mL). (Vedi Tabella "Recovery" per dati rappresentativi.)

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

Emolisi: La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 381 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Lipemia: La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 4 000 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Tipo di Campione Alternativo:
Per determinare l'effetto di campioni alternativi, è stato prelevato del sangue da 21 volontari in provette semplici, eparinizzate, EDTA e Becton Dickinson vacutainer SST. Ad ugual volumi di campioni misti sono state aggiunte varie concentrazioni di anti-TG per ottenere valori lungo l'intero range di calibrazione del dosaggio e quindi dosati con il kit IMMULITE 2000 Anti-Tg Ab.

(Eparina) = 1,05 (Siero) – 11 IU/mL
r = 0,998

(EDTA) = 1,02 (Siero) – 2,6 IU/mL
r = 0,988

(SST) = 1,07 (tubi semplici) – 12 IU/mL
r = 0,993

Valore Medio :
752 IU/mL (Siero)
779 IU/mL (Eparina)
767 IU/mL (EDTA)
795 IU/mL (SST)

Comparazione di Metodi: Il dosaggio è stato comparato al dosaggio Anti-TG Ab IMMULITE su 178 campioni di pazienti. (Range di concentrazione: da 20 fino a 2500 IU/mL. Vedi grafico.) Con regressione lineare:

(IML 2000) = 1,1 (IML) – 21 IU/mL
r = 0,959

Valore medio:
297 IU/mL, (IMMULITE 2000)
290 IU/mL (IMMULITE)

Assistenza Tecnica

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

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485:2003.

Português

Anti-TG

Utilização: Para diagnóstico *in vitro.* Para o doseamento quantitativo da Anti-Tiroglobulina Ab no soro, no plasma heparinizado ou EDTA, em conjunto com os analisadores dos sistemas IMMULITE 2000, no auxílio da avaliação clínica da função tiroideia.

Números de catálogo:
L2KTG2 (200 testes)
L2KTG6 (600 testes)

Código do teste: **ATG** Cor: **Laranja**

Sumário e explicação do teste

A Tiroglobulina é produzida unicamente pela glândula da tiroide e é o componente maioritário do coloide folicular da tiroide. As hormonas tiroideias 3,5,3',5',-tetraiodotironina (tiroxina, T4) e 3,5,3'-triiodotironina (T3) são sintetizadas a partir da tiroglobulina.[21]

Os auto-anticorpos para a tiroglobulina (auto-anticorpos anti-TG) estão presentes com grande frequência em pacientes com doenças autoimunes da tiroide. Aproximadamente 10% dos indivíduos saudáveis apresentam autoanticorpos para TG em baixos níveis; concentrações superiores são encontradas em 30 a 85% dos pacientes com a doença de Grave's e tiroidite de Hashimoto's, respectivamente.[10] Nestas doenças, elevados níveis de anticorpos para a peroxidase da tiroide (autoanticorpos anti-TPO) ocorrem mais frequentemente do que para a tiroglobulina, no entanto; as determinações de anti-TG não parecem acrescentar informação ao diagnóstico fornecido pelos resultados de anti-TPO.[5]

Os doseamentos dos autoanticorpos anti-TG são muito úteis na avaliação de amostras submetidas ao doseamento de TG, porque os autoanticorpos poderão interferir quer com os métodos competitivos, quer com os métodos imunométricos para o doseamento da TG.[19]

Princípio do procedimento

IMMULITE 2000 Anti-Tiroglobulina Ab é um ensaio imunométrico sequencial de fase sólida, de enzimas quimico-luminosas.

Ciclos de incubação: 2 × 30 minutos
Tempo para o Primeiro Resultado: 65 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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 Anti-TG não foram ainda testados com todas as possiveis 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: 5 µL de amostra

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

Factor de pré-diluição automática: 100

Dispensar o volume de diluente necessário (L2AAZ) num tubo de ensaio apropriado com código de barras aplicado.

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.



PRECAUÇÃO! POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO
Contém material de origem humana. Cada dádiva de sangue ou componente de sangue humano foi testada pelos métodos aprovados pela FDA quanto à presença de anticorpos dos vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e tipo 2 (VIH-2), bem como do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e dos anticorpos do vírus da hepatite C (VHC). Os resultados dos testes foram negativos (não repetidamente reativos). Nenhum teste oferece total garantia de que estes ou outros agentes infeciosos estejam ausentes; este material deve ser manuseado de acordo com as boas práticas laboratoriais e precauções universais.[23-25]

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.





H311, H302, H411

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

Perigo! Tóxico em contacto com a pele. Nocivo por ingestão. Tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. Usar luvas de protecção/ vestuário de protecção/ protecção ocular/protecção facial. Evitar a libertação para o ambiente. EM CASO DE INGESTÃO: Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. Eliminar o conteúdo e o recipiente em conformidade com todos os regulamentos locais, regionais e nacionais.
Contém: 2-metil-2H-isotiazol-3-ona, azida de sódio; Ajustes Anti-Tiroglobulina Ab

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, dando 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. As etiquetas no interior das caixas são necessárias para o ensaio.

Embalagem de pérolas de Anti-Tiroglobulina Ab (L2TG12)
Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com anticorpo monoclonal de tiroglogulina altamente purificada. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KTG2: 1 embalagem
L2KTG6: 3 embalagens

Embalagem de reagentes de Anti-Tiroglobulina Ab (L2TGA2)
Com código de barras. 11,5 ml de matriz em tampão. 11,5 ml de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugada com anticorpo monoclonal de murino anti-IgG humana em tampão, com conservante. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KTG2: 1 embalagem
L2KTG6: 3 embalagens

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

Ajustes Anti-Tiroglobulina Ab (LTGL, LTGH)
Contém dois frascos (nível alto e baixo) com autoanticorpos TG, numa matriz de soro humano tamponizada, com conservante. Pelo menos 30 minutos antes do uso, reconstitua cada frasco com **4,0 mL** de água destilada ou desionizada. Misture por inversão ou movimentos lentos até o material liofilizado dissolver completamente. (Não é necessária diluição adicional.) Divida em alíquotas e *congele* em recipientes plásticos bem fechados. Evite ciclos repetidos de congelamento/ descongelamento. Estável, após a reconstituição, durante 7 dias a 2–8°C o a –20°C durante 6 meses (aliquotado).
L2KTG2: 1 conjunto
L2KTG6: 2 conjuntos

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

Diluente da amostra de autoanticorpos da tiroide(L2AAZ)
Código do teste: **TAD**. Para a diluição automática no aparelho de amostras de doentes. 50 mL de concentrado (pronto a usar) constituido de matriz tamponizada livre de anticorpos anti-TG/anti-TPO com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KTG2: 1 frasco **L2KTG6:** 3 frascos

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2KTG2: 3 etiquetas
L2KTG6: 5 etiquetas

Componentes do kit fornecidos separadamente

L2SUBM: Substrato quiomioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Kit de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)
L2ZT: 250 Tubos de diluente da amostra (16 × 100 mm)

L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

LAACM: Módulo de controlo com 2 níveis

Também necessário
Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos.

Procedimento do doseamento

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

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

Intervalo entre ajustes aconselhável: 2 semanas

Amostras de controlo de qualidade: utilize controlos ou “pools” com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de autoanticorpos TG e TPO.

Valores de Referência

Baseado na sua relação com a Anti-Tiroglobulina Ab IMMULITE (ver compara ção de métodos), pode-se esperar que o doseamento tenha valores de referência indênticos.

Amostras de soro com níveis normais de TSH e T4 livre provenientes de 117 adultos aparentemente saudáveis, sem qualquer historial de doença tiroideia, foram processdas usando o método de doseamento dos autoanticorpos anti-TG Ab do IMMULITE. Os resultados obtidos apresentaram um percentil de 95% de aproximadamente 40 IU/mL, sugerindo um valor de referência *preliminar* para adultos de

Não detectável até 40 IU/mL.

Trinta e quatro amostras de soro de pacientes com a doença de Graves e trinta e seis amostras de pacientes coma doença de Hashimoto foram testadas usando o método de doseamento anti-TG ab IMMULITE. Catorze das 34 amostras provenientes de pacientes com a doença de Grave's (41%) e vinte cinco das 36 amostras de pacientes com a doença de (69%) apresentaram níveis elevados de anticorpos anti-TG.

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

Limitações

Para fins de diagnóstico, os resultados de anti-TG devem ser usados em conjunto com os resultados de outros testes e com toda a restante informação clínica apropriada.

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 apresentados em IU/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.

Zona de Trabalho: 20–3000 IU/mL (WHO 1st IRP 65/93)

Sensibilidade Analítica: 2,2 IU/mL

Efeito Hook de Alta Dose: nenhum até 55 552 IU/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 “Precisão”.)

Linearidade: As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. (Ver a tabela de “Linearity” para dados representativos.) Devido à heterogenidade dos anticorpos anti TG, certas amostras podem não apresentar o paralelismo nas diluições no IMMULITE 2000 Anti-TG.

Recuperação: Amostras adicionadas na relação de 1 para 19 com três soluções de anti-TG Ab (200, 800 e 2000 IU/mL) foram doseadas. (Ver tabela de “Recovery” para dados representativos.)

Bilirrubina: A presença de bilirrubina em concentrações até 200 mg/L não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Hemolise: A presença de hemoglobina em concentrações até 381 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipemia: A presença de trigliceridos em concentrações até 4000 mg/dL não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Tipo de amostra alternativa: Para determinar o efeito de amostras alternatives, foi colhido sangue de 21 voluntários em tubos secos, com EDTA, heparinizados e tubos de vacum SST da Becton Dickinson. A volumes iguais das mesmas amostras foram adicionadas várias concentrações de Anti-TG para obter valores ao longo da gama de calibração do ensaio. As amostras foram doseadas com o IMMULITE 2000 Anti-TG.

(Heparina) = 1,05 (Soro) – 11 IU/mL
r = 0,998

(EDTA) = 1,02 (Soro) – 2,6 IU/mL
r = 0,988

(SST) = 1,07 (tubos simples) – 12 IU/mL
r = 0,993

Médias:
752 IU/mL (Soro)
779 IU/mL (Heparina)
767 IU/mL (EDTA)
795 IU/mL (SST)

Comparação de métodos: O doseamento foi comparado ao Anti-Tiroglobulina Ab IMMULITE em 178 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 20 a 2500 IU/ml. Ver gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 1,1 (IML) – 21 IU/mL
r = 0,959

Médias:
297 IU/mL (IMMULITE 2000)
290 IU/mL (IMMULITE)

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485:2003.

IMMULITE is a trademark of
Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2015 Siemens Healthcare Diagnostics.
All rights reserved.

Made in: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

2015-08-04

PIL2KTG – 22

Changes in this Edition:

cc#EU22564: Precision information was updated in the Performance Data and Tables and Graphs sections.

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol Definition



En: *In vitro* diagnostic medical device
De: Medizinisches Gerät zur *In-vitro* Diagnose
Es: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
Fr: Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
It: Dispositivo medico per diagnostica *in vitro*
Pt: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*



En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo



En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante



En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia

Symbol Definition



En: CE Mark
De: CE-Kennzeichen
Es: Marca CE
Fr: Marque CE
It: Marchio CE
Pt: Marca CE



En: CE Mark with identification number of notified body
De: CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle
Es: Marca CE con número de identificación del organismo notificado
Fr: Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié
It: Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato
Pt: Marca CE, com número de identificação do organismo notificado



En: Consult instructions for use
De: Bedienungshinweise beachten
Es: Consulte las instrucciones de uso
Fr: Consulter le mode d'emploi
It: Consultare le istruzioni per l'uso
Pt: Consulte as instruções de utilização

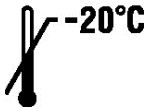


En: Caution! Potential Biohazard
De: Vorsicht! Biologisches Risikomaterial
Es: ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial
Fr: Avertissement ! Risque biologique potentiel
It: Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico
Pt: Atenção! Potenciais Riscos Biológicos



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

Symbol Definition



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



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



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



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



En: Keep away from sunlight
De: Vor Sonneneinstrahlung schützen
Es: Proteger de la luz solar
Fr: Maintenir hors de portée de la lumière du soleil
It: Non esporre alla luce del sole
Pt: Manter afastado da luz solar



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

Symbol Definition



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

2008-01

En: Date format (year-month)
De: Datumsformat (Jahr-Monat)
Es: Formato de fecha (año-mes)
Fr: Format de la date (année-mois)
It: Formato data (anno-mese)
Pt: Formato de data (ano-mês)



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



En: Health Hazard
De: Gesundheitsgefährdung
Es: Peligro para la salud
Fr: Dangereux pour la santé
It: Pericolo per la salute
Pt: Perigo para a saúde



En: Exclamation Mark
De: Ausrufezeichen
Es: Signo de exclamación
Fr: Point d'exclamation
It: Punto esclamativo
Pt: Ponto de exclamação



En: Corrosion
De: Korrosion
Es: Corrosión
Fr: Corrosion
It: Corrosione
Pt: Corrosão



En: Skull and Crossbones
De: Totenkopf mit gekreuzten Knochen
Es: Calavera y tibias cruzadas
Fr: Tête de mort sur tibias croisés
It: Teschio e tibie incrociate
Pt: Caveira sobre tíbias cruzadas



En: Environment
De: Umwelt
Es: Medio ambiente
Fr: Environnement
It: Ambiente
Pt: Ambiente

Symbol	Definition
BEAD PACK	**En:** Bead Pack **De:** Kugel-Container **Es:** Cartucho de bolas **Fr:** Cartouche de billes **It:** Contenitore di biglie **Pt:** Embalagem de esferas
TEST UNIT	**En:** Test Unit **De:** Testeinheit **Es:** Unidades de análisis **Fr:** Unité de test **It:** Test Unit **Pt:** Unidades de Teste
REAG WEDGE REAG WEDGE A REAG WEDGE B REAG WEDGE D	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste

Symbol	Definition
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL CONTROL 1 CONTROL 2 CONTROL 3	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo

Symbol	Definition
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

Anti-TPO Ab

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 Anti-TPO Ab

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the quantitative measurement of antithyroid peroxidase (TPO) antibodies in serum and EDTA plasma, as an aid in the clinical diagnosis of thyroid diseases.

Catalog Number: **L2KTO2** (200 tests) **L2KTO6** (600 tests)

Test Code: **ATA** Color: **Aqua**

Summary and Explanation

Antithyroid peroxidase (TPO) antibodies are autoantibodies directed against the thyroid peroxidase enzyme. This enzyme catalyzes the iodination of tyrosine in thyroglobulin during the biosynthesis of T3 and T4.[2]

Historically, these antibodies were referred to as antimicrosomal antibodies (AMA) because the antibodies bind to the microsomal part of the thyroid cells. Recent research has identified thyroid peroxidase as the primary antigenic component of microsomes.[2,3,13]

Thyroid autoimmune disease is the major factor underlying hypothyroidism and hyperthyroidism and tends to occur in a genetically predisposed population.

The major thyroid autoimmune diseases are: Hashimoto's thyroiditis and Graves' disease.[13] In virtually all cases of Hashimoto's disease and in the majority of Graves' disease cases, TPO autoantibodies are elevated.[13] High levels of TPO autoantibodies, in the context of the clinical presentation of hypothyroidism, confirms the diagnosis of Hashimoto's disease.

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 Anti-TPO Ab is a solid-phase, enzyme-labeled, chemiluminescent sequential 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 Anti-TPO Ab 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: 5 µL sample

Storage: 2 days at 2–8°C, or for longer periods frozen at –20°C.

Automatic Predilution Factor: 100

Dispense required volume of diluent (L2AAZ) to a suitable test tube with barcode label applied.

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.



CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD
Contains human source material. Each donation of human blood or blood component was tested by FDA-approved methods for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) as well as for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis C virus (HCV). The test results were negative (not repeatedly reactive). No test offers complete assurance that these or other infectious agents are absent; this material should be handled using good laboratory practices and universal precautions.[15-17]

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.





H311, H302, H411

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

Danger! Toxic in contact with skin. Harmful if swallowed. Toxic to aquatic life with long lasting effects. Wear protective gloves/ protective clothing/eye protection/face protection. Avoid release to the environment. IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell. IF ON SKIN: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell. Dispose of contents and container in accordance with all local, regional, and national regulations.
Contains: 2-methyl-2H-isothiazol-3-one, sodium azide; Anti-TPO Ab Adjustors

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.

Anti-TPO Ab Bead Pack (L2TO12)
With barcode. 200 beads, coated with highly purified human TPO. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KTO2: 1 pack **L2KTO6:** 3 packs

Anti-TPO Ab Reagent Wedge (L2TOA2)
With barcode. 11.5 mL buffer matrix, with preservative. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to monoclonal murine anti-human IgG in buffer, with preservative. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KTO2: 1 wedge **L2KTO6:** 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.

Anti-TPO Ab Adjustors (LTOL, LTOH)
Two vials (Low and High), of lyophilized TPO autoantibodies in a human serum/buffer matrix, with preservative. At least 30 minutes before use, reconstitute each vial by adding **4.0 mL** distilled or deionized water. Mix by *gentle* swirling or inversion until the lyophilized material is fully dissolved. (No further dilution is required.) Aliquot and freeze in tightly capped plastic containers. Avoid repeated freeze/thaw cycles. Stable at 2–8°C for 7 days after reconstitution, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KTO2: 1 set **L2KTO6:** 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.

Thyroid Autoantibody Sample Diluent (L2AAZ)
Test code: **TAD**. For the on-board dilution of patient samples. 50 mL concentrated (ready-to-use) anti-TG/anti-TPO antibody-free buffer matrix, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KTO2: 1 vial **L2KTO6:** 3 vials

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.
L2KTO2: 3 labels **L2KTO6:** 5 labels

Kit Components Supplied Separately

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate
L2PWSM: Probe Wash
L2KPM: Probe Cleaning Kit
LRXT: Reaction Tubes (disposable)
L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

LAACM: Bi-level control module

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 Systems Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Systems 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 TG and TPO autoantibodies.

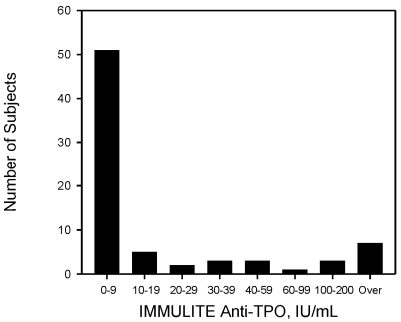
Expected Values

Based on its relationship to IMMULITE Anti-TPO Ab (see Method Comparison), the assay can be expected to have essentially the same reference ranges.

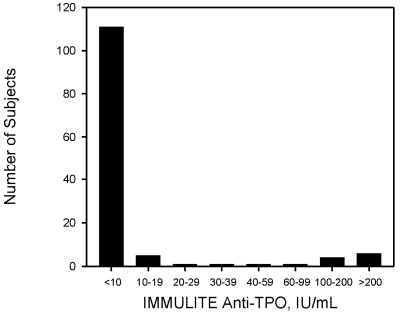
Thyroid peroxidase autoantibodies are unique for each patient; therefore, each patient sample will show its own individual binding characteristics. Normal levels for most patients have been defined as less than 35 IU/mL for the IMMULITE Anti-TPO Ab assay. A numerical result greater than or equal to 35 IU/mL indicates an elevated anti-TPO level in serum, whereas a result less than 35 IU/mL indicates a *normal* anti-TPO level in serum. However, due to individual variability it is also possible that a normal patient with no history of thyroid disease may have reproducible elevated values greater that 35 IU/mL.

Two studies are presented below that demostrate the variability between two random populations.

Using the IMMULITE Anti-TPO Ab assay, the levels of TPO autoantibodies were determined for 75 apparently healthy subjects (26 males and 49 females), with ages ranging from 13 to 87 years. All had normal TSH levels, and none had thyroid autoimmune disorders. Using the recommended 35 IU/mL cutoff, 79% (59/75) of the subjects had normal anti-TPO values. The following histogram shows the distribution of subjects for different levels of TPO autoantibodies.



In another study, IMMULITE Anti-TPO Ab procedure was used to determine the TPO autoantibody levels of 130 apparently healthy subjects. Using the recommended 35 IU/mL cutoff, 92% (118/130) of the subjects had normal anti-TPO values. The distribution of subjects for different levels of TPO autoantibodies is presented in the following histogram.



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

Limitations

For diagnostic purposes, anti-TPO results should be used in conjunction with other test results, the overall clinical presentation to the physician, and all other approriate information. Autoantibodies may be found in less than 10% of the normal population at low levels and in patients with non-thyroidial illnesses, such as the inflammatory rheumatic diseases.[14]

Patient TPO autoantibodies and the antibodies used for calibrating the assay may differ in their binding properties. This may lead to deviations from strict dilutional parallelism for certain patient samples.

Heterophilic antibodies in human serum can react with the immunoglobulins included in the assay components causing interference with *in vitro* immunoassays. [See Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34: 27-33.] Samples from patients routinely exposed to animals or animal serum products can demonstrate this type of interference potentially causing an anomalous result. These reagents have been formulated to minimize the risk of interference; however, potential interactions between rare sera and test components can occur. For diagnostic purposes, the results obtained from this assay should always be used in combination with the clinical examination, patient medical history, and other findings.

Performance Data

See Tables and Graphs for data *representative* of the assay's performance. Results are expressed in IU/mL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Calibration Range: up to 1,000 IU/mL (WHO 1st IRP 66/387)

Analytical Sensitivity: 5.0 IU/mL

Hook-Effect: None up to 16,624 IU/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 anti-TPO Ab solutions (63, 207 and 520 IU/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Alternate Sample Type: To assess the effect of alternate sample types, blood was collected from 20 volunteers into plain, heparinized, EDTA and Becton Dickinson SST® vacutainer tubes. Equal volumes of the matched samples were spiked with various concentrations of TPO autoantibodies, to obtain values throughout the calibration range of the assay, and then assayed by the IMMULITE 2000 Anti-TPO Ab procedure.

(Heparin) = 0.84 (Serum) + 17 IU/mL
r = 0.984

(EDTA) = 0.89 (Serum) + 15 IU/mL
r = 0.981

(SST) = 0.88 (Plain Tubes) + 17 IU/mL
r = 0.984

Means:
299 IU/mL (Serum)
268 IU/mL (Heparin)
282 IU/mL (EDTA)
279 IU/mL (SST)

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

Biotin: Specimens that contain biotin at a concentration of 1500 ng/mL demonstrate a less than or equal to 10% change in results. Biotin concentrations greater than this may lead to incorrect results for patient samples.

Hemolysis: Presence of hemoglobin in concentrations up to 381 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 IMMULITE Anti-TPO Ab on 246 samples. (Concentration range: approximately 10 to 1,000 IU/mL. See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 0.97 (IML) – 2.6 IU/mL
r = 0.987

Means:
188 IU/mL (IMMULITE 2000)
197 IU/mL (IMMULITE)

References

1) Becker W, Reimers C, Börner W. Immunological criteria for the differential diagnosis of thyroid disease. Therapiewoche 1985;35:1167-76. 2) Czarnocka B, Ruf J, Ferrand M, et al. Purification of the human thyroid peroxidase and its identification as the microsomal antigen involved in autoimmune thyroid diseases. FEBS lett. 1985;190:147-52. 3) Czarnocka B, Ruf J, Ferrand M, et al. Interaction of highly purified thyroid peroxidase with anti-microsomal antibodies in autoimmune thyroid diseases. J Endocrinol Invest 1986;9:135-8. 4) Ruf J, Czarnocka B, Ferrand M, et al. Thyroid peroxidase is the organ-specific 'microsomal' antigen involved in thyroid autoimmunity. Acta Endocrinol (Copenh) 1987;Suppl. 281: 49-55. 5) Ruf J, Czarnocka B, Ferrand M, et al. Relationship between immunological structure and biochemical properties of human thyroid peroxidase. Endocrinol 1988;125 (3):1211-8. 6) Horster FA. The importance of MAK, TAK, TRAK and thyroglobulin in the diagnosis of thyroid disease. Internist 1988;29:538-40. 7) Schatz H, Löbig H. The diagnostic and prognostic importance of antibodies against thyroid microsomes and thyroglobulin. Akt Endokr Stoffw 1989;10: 146-53. 8) Hashimoto H. Understanding the lymphatic changes of the thyroid. Arch Klin Chir 1912;97:219-48. 9) Libert F, Ruel J, Ludgate M, et al. Thyroperoxidase, an auto-antigen with a mosaic structure made of nuclear and mitochodrial gene modules. EMBO J 1987;6:4193-6. 10) McKenzie JM, Zakarija M, Sato A. Humoral immunity in Graves' disease. Clin Endocrinol Metab 1978;7:31-45. 11) Scherbaum WA, Berg PA. The importance of autoantibodies in the diagnosis of endocrine disease. Dtsch Med Wschr 1981;106:308-13. 12) Scherbaum WA, Berg PA. Thyroid autoimmune disease – new aspects in development and diagnosis. Dtsch Med Wschr 1984;109:1574-81. 13) Feldt-Rasmussen U. Analytical and clinical performance goals for testing autoantibodies to thyroperoxidase, thyroglobulin, and thyrotropin receptor. *Clin Chem* 1996;42:160-3. 14) Wild D, editor. The immunoassay handbook. Great Britain: Stockton Press, 1994: 342-3. 15) Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. MMWR, 1988;37:377–82, 387–8. 16) Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3. 17) Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030.

Technical Assistance

In the United States, contact Siemens Healthcare Diagnostics Technical Services department. Tel: 877.229.3711. Outside the United States, contact your National Distributor.

www.siemens.com/diagnostics

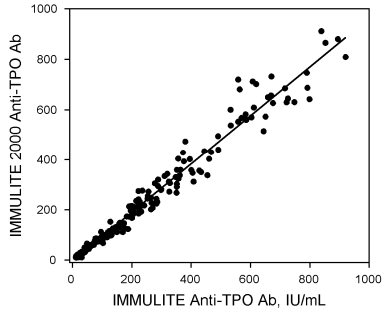
The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

Precision (IU/mL)

		Within-Run[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	55.54	2.90	5.21%	3.41	6.13%
2	91.15	4.52	4.96%	6.00	6.58%
3	122.96	7.72	6.27%	8.83	7.18%
4	544.14	30.31	5.57%	35.20	6.47%
5	636.29	33.68	5.29%	51.85	8.15%

Method Comparison



(IML 2000) = 0.97 (IML) – 2.6 IU/mL
r = 0.987

Linearity (IU/mL)

	Dilution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	8 in 8[5]	219	—	—
	4 in 8	109	110	99%
	2 in 8	57	55	104%
	1 in 8	27	27	100%
2	8 in 8	394	—	—
	4 in 8	218	197	111%
	2 in 8	103	99	104%
	1 in 8	52	49	106%
3	8 in 8	474	—	—
	4 in 8	253	237	107%
	2 in 8	131	119	110%
	1 in 8	59	59	100%
4	8 in 8	547	—	—
	4 in 8	255	274	93%
	2 in 8	129	137	94%
	1 in 8	62	68	91%
5	8 in 8	651	—	—
	4 in 8	336	326	103%
	2 in 8	166	163	102%
	1 in 8	88	81	109%
6	8 in 8	932	—	—
	4 in 8	478	466	103%
	2 in 8	223	233	96%
	1 in 8	110	117	94%

Recovery (IU/mL)

	Solution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	—	54	—	—
	A	97	114	85%
	B	244	264	92%
	C	503	571	88%
2	—	115	—	—
	A	149	172	87%
	B	307	319	96%
	C	589	629	94%
3	—	133	—	—
	A	187	189	99%
	B	346	336	103%
	C	560	646	87%
4	—	186	—	—
	A	238	239	100%
	B	382	386	99%
	C	625	697	90%
5	—	251	—	—
	A	284	301	94%
	B	427	448	95%
	C	653	758	86%

Deutsch. **Precision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]S (Standardabweichung), [5]CV (Variationskoeffizient). **Linearity**: [1]Verdünnung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Lösung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E.

Español. **Precision**: [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV. **Linearity**: [1]Dilución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 en 8. **Recovery**: [1]Solución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Method Comparison.** Anti-TPO Ab: Anticuerpos Anti-TPO.

Français. Precision: [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]SD, [5]CV. **Linéarité**: [1]Dilution, [2]Observée (O), [3]Attendue (A), [4]%O/A, [5]8 dans 8. **Test de récupération**: [1]Solution, [2]Observée (O), [3]Attendue (A), [4]%O/A.

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity**: [1]Diluizione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Soluzione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A.

Português. **Precision**: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação. **Linearity**: [1]Diluição, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 em 8. **Recovery**: [1]Solução, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E.

Deutsch

ANTI-TPO AB

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme — zur quantitativen Messung von Autoantikörpern gegen Schilddrüsen-Peroxidase im Serum und Plasma.

Artikelnummern: **L2KTO2** (200 Tests), **L2KTO6** (600 Tests)

Testcode: **ATA** Farbe: **türkis**

Klinische Relevanz

Anti Thyreoperoxidase (TPO) Antikörper sind Antikörper gegen die Peroxidase der Schilddrüse. Diese Enzym katalysiert die Iodierung des Thyrosin in der Biosynthese des T3 und T4 am Thyreoglobulin.

Diese Antikörper werden auch häufig als antimikrosomale Antikörper (AMA) bezeichnet, da sie an den mikrosomalen Teil der Schilddrüsenzellen binden. Die Thyreoperoxidase wurde als die primäre antigene Komponente der Mikrosomen identifiziert.

Autoimmune Schilddrüsenerkrankungen sind eine der Hauptursachen für Hypo- und Hyperthyreoidismus. Eine höhere Inzidenz dieser Erkrankungen wird bei einer entsprechenden genetischen Veranlagung beobachtet.

Die wichtigsten Schildddrüsenauto-immunerkrankungen sind: Hashimoto Thyreoiditis und Morbus Basedow. Bei praktisch allen Hashimoto Erkrankungen und in der Mehrzahl der Morbus Basedow Erkrankungen werden erhöhte TPO Autoantikörperspiegel gefunden. Hohe TPO-Autoantikörperspiegel und klinische Zeichen einer Hypothyreose bestätigen die Diagnose der Hashimoto Thyreoiditis.

Methodik

IMMULITE 2000 ANTI-TPO AB ist ein sequentieller Festphasen-Chemiluminiszenz- 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 Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter 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 Anti-TPO sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel „Alternative Probenarten“ zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 5 µl probe

Lagerung: 2 Tage bei 2–8°C, oder für längere Lagerung eingefroren bei –20°C.

Verdünnungsfaktor (automatisch): 100. Bitte vor Gebrauch ein Probenröhrchen mit ausreichender Menge Verdünnungs-puffer (L2AAZ) und dem entsprechenden Barcode versehen.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *In-vitro*-Diagnostik.



VORSICHT! BIOLOGISCHES RISIKOMATERIAL
Enthält Material humanen Ursprungs. Alle Blutspenden oder Blutkomponenten menschlicher Herkunft wurden nach FDA-genehmigten Methoden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die HI-Viren Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2) sowie von Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und Antikörpern gegen den Hepatitis C-Virus (HCV) getestet. Die Testergebnisse waren negativ (nicht wiederholt reaktiv). Durch keinen Test kann das Vorhandensein dieser oder anderer infektiöser Stoffe vollständig ausgeschlossen werden. Dieses Material ist mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und gemäß der allgemein anerkannten guten Laborpraxis zu handhaben.[15-17]

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.





H311, H302, H411

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

Gefahr! Giftig bei Hautkontakt. Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. Giftig für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/ Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Freisetzung in die Umwelt vermeiden. BEI VERSCHLUCKEN: Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. Inhalt und Behälter sind in Übereinstimmung mit den gesetzlichen Bestimmungen zu entsorgen.
Enthält: 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on, Natriumazid; Anti-TPO Ab-Kalibratoren

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.

Bestandteile der Testpackung

Die Bestandteile sind aufeinander abgestimmt. Die Aufkleber auf der Innenverpackung werden zur Testdurchführung benötigt.

Anti-TPO Ab Kugel-Container (L2TO12)
Barcodiert. Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit gereinigtem TPO. Gekühlt (2–8°C) haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum.
L2KTO2: 1 Container
L2KTO6: 3 Container

Anti-TPO- Reagenzbehälter (L2TOA2)
Barcodiert, Reagenz-Container enthält 11,5 ml Puffer-Matrix (mit Konservierungsmittel), sowie 11,5 ml alkalische Phosphatase (Kalb) konjugiert mit monoklonalem Anti-humanen IgG (Maus) in einem Puffer (mit Konservierungsmittel). Gekühlt (2-8°C) haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum.
L2KTO2: 1 Behälter
L2KTO6: 3 Behälter

Vor Gebrauch den Aufkleber vorsichtig an der Perforation abreißen, ohne dabei die Barcodierung zu beschädigen. Die Folie von der Oberseite des Containers entfernen. Bei Einsetzen in das System, den Schiebedeckel nach unten in die

Führung des Reagenziendeckels einrasten lassen.

Anti-TPO Ab-Kalibratoren (LTOL, LTOH)
Zwei Fläschchen jeweils (niedrig und hoch) mit lyophilisiertem TPO Autoantikörper in humaner Serum-Puffer-Matrix (mit Konservierungsmittel). Mindestens 30 min. vor dem Gebrauch, fläschchen mit **4,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. Zum Mischen leicht schwenken oder umdrehen, bis das gefriergetrocknete Material vollständig aufgelöst ist. (Muss nicht weiter verdünnt werden.) In fest verschlossenen Plastikbehältern aliquotieren und *einfrieren.* Wiederholtes Einfrieren/Auftauen vermeiden. Nach Rekonstituierung 7 Tage bei 2–8°C, sonst 6 Monate (aliquotiert) bei –20°C haltbar.
L2KTO2: 1 Set **L2KTO6:** 2 Set

Zur Kalibrierung die dem Kit beiliegende Aufkleber auf Röhrchen kleben, die Kalibratoren umfüllen und in das Gerät stellen, so dass die Barcodes vom Barcodereader des Systems eingelesen werden können.

Thyroid Autoantikörper – Verdünnungspuffer (L2AAZ)
Testcode: **TAD**. Zum automatischen Verdünnen der Patientenproben. 50 ml konzentrierte (gebrauchsfertig) Anti-TG/Anti-TPO-Antikörper-freie Puffer-Matrix (mit Konservierungsmittel). 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KTO2: 1 Flasche **L2KTO6:** 3 Flaschen

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2KTO6: 3 Etiketten **L2KTO6:** 5 Etiketten

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße
L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm) für die Probenverdünnung
L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

LAACM: Bi-level Kontroll Modul

Ebenfalls benötigt:
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Röhrchen; Kontrollen

Testdurchführung

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

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

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
2 Wochen

Qualitätskontrollseren: Kontrollen oder Seren mit TG and TPO Autoantikörpern in zumindest zwei Konzentrationen (niedrige und hohe) verwenden.

Referenzwerte

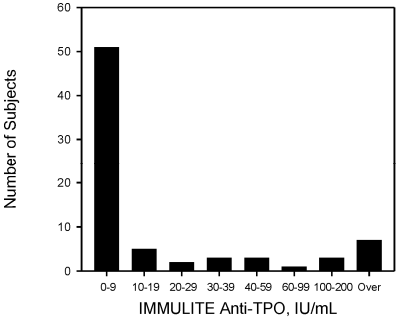
Aufgrund der guten Korrelation zum IMMULITE Anti-TPO Ab (siehe Methodenvergleich) ist zu erwarten, daß dieselben Referenzwerte gefunden werden.

Thyreoperoxidase-Autoantikörper sind spezifisch für jeden Patienten. Aus diesem Grund zeigt jedes Patientenserum eine individuelle Bindungscharakteristik. Für den IMMULITE Anti-TPO Ab Assay wurden Werte <35 IU/ml als normal definiert. Eine Ergebnis >35 IU/ml zeigt erhöhte Anti-TPO-Antikörperspiegel im Serum an. Werte ≤ 35 IU/ml sind als normal zu betrachten. Jedoch ist es möglich, daß bei Patienten ohne Hinweis auf eine Schilddrüsenerkrankung reproduzierbar Werte über 35 IU/ml nachgewiesen werden können.

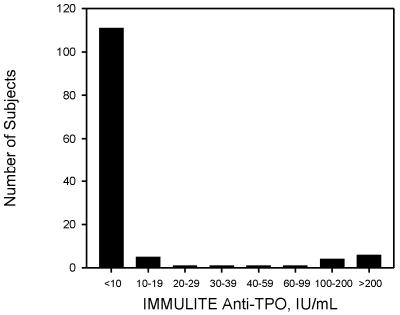
Die im folgenden Abschnitt dargestellen Studien zeigen die Unterschiede zwischen zwei zufällig ausgewählten Populationen.

In Serumproben von 75 anscheinend gesunden Patienten (26 Männer, 49 Frauen) im Alter von 13 bis 87 Jahren wurden mit dem IMMULITE Anti-TPO-Ab

die TPO-Autoantikörperkonzentration bestimmt. Alle zeigten normale TSH-Werte und hatten keine Schilddrüsen-autoimmunerkrankung. Unter Berücksichtigung des Cut off Wertes von 35 IU/ml hatte 79% (59/75) normale Anti-TPO Werte. Das folgende Histogramm zeigt die Werteverteilung des getesteten Kollektivs.



In einer weiteren Studie wurden mit dem IMMULITE Anti-TPO Ab die TPO Autoantikörperspiegel in 130 anscheinend gesunden Probanden bestimmt. Unter Berücksichtigung des Cut off Wertes von 35 IU/ml hatten 92% (118/130) normale Anti-TPO Werte. Das folgende Histogramm zeigt die Werteverteilung des getesteten Kollektivs.



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

Grenzen der Methode

Für den diagnostischen Einsatz sollten die Anti-TPO Ergebnisse nur im Zusammenhang mit zusätzlichen Testergebnissen, den Untersuchungs-ergebnissen des Arztes und allen anderen verfügbaren Ergebnissen interpretiert werden. Erhöhte Autoantikörperspiegel werden bei ca. 10% der gesunden Bevölkerung sowie auch bei nicht die Schilddrüse betreffenden Erkrankungen, wie entzündlichen rheumatoiden Krankheitsbildern, gefunden.[14]

Die TPO Autoantikörper in der Patientenprobe und die zur Kalibration verwendeten Autoantikörper können unterschiedliche Bindungscharakteristika aufweisen. Diese Tatsache kann die Verdünnungslinearität in einzelnen Patientenprobe beeinflussen.

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

Meßbereich: Bis zu 1 000 IU/ml (WHO 1st IRP 66/387)

Analytische Sensitivität: 5,0 IU/ml

High-Dose-Hook-Effect: Keiner bis zu 16 624 IU/ml

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen, 2 Serien pro Tag, in Doppelbestimmung gemessen (insgesamt 40 Bestimmungen und 80 Einzelmessungen). (Siehe Tabelle „Precision“.)

Linearität: Proben wurden in verschiedenen Verdünnungsstufen getestet. (Siehe Tabelle „Linearity“ für repräsentative Daten.)

Wiederfindung: Proben wurden mit drei Lösungen (63, 207 und 520 IU/ml) im Verhältnis von 1:19 versetzt. (Siehe Tabelle „Recovery“ für representative Daten.)

Alternativer Probentyp: Um die Auswirkungen von verschiedenen Probenarten zu untersuchen, wurde Blut von 20 Freiwilligen in Röhrchen ohne Additiva, in Heparin-, EDTA- und Becton Dickinson SST Vacutainer-Rörchen gesammelt. Gleiche Volumina der jeweiligen Proben wurden mit verschiedenen Konzentrationen an TPO Autoantikörpern versetzt, um Werte im gesamten Kalibrationsbereich zu erhalten, und die Proben anschließend mit dem IMMULITE 2000 Assay für Anti-TPO Ab gemessen.

(Heparin) = 0,84 (Serum) + 17 IU/ml
r = 0,984

(EDTA) = 0,89 (Serum) + 15 IU/ml
r = 0,981

(SST) = 0,88 (einfachen Röhrchen) + 17 IU/mL
r = 0,984

Mittelwert:
299 IU/ml (Serum)
268 IU/ml (Heparin)
282 IU/ml (EDTA)
279 IU/mL (SST)

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

Biotin: Proben, die Biotin in einer Konzentration von 1500 ng/ml enthalten, zeigen eine Veränderung der Ergebnisse von kleiner oder gleich 10 %. Größere Biotin-Konzentrationen als diese können zu falschen Ergebnissen bei Patientenproben führen.

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 381 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: Der Assay wurde unter Verwendung von 246 Patientenproben mit IMMULITE Anti-TPO Ab verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 10 bis 1 000 IU/ml. Siehe Grafik „Method Comparison“)
Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 0,97 (IML) – 2,6 IU/ml
r = 0,987

Mittelwert:
188 IU/ml (IMMULITE 2000)
197 IU/ml (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

Anti-TPO

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro* usado con los analizadores IMMULITE 2000 — para la medición cuantativa de anticuerpos anti-peroxidasa tiroidea (anti-TPO) en suero y EDTA plasma, siendo una herramienta util en el diagnóstico de las enfermedades tiroideas.

Números de Catálogo:
L2KTO2 (200 tests), **L2KTO6** (600 tests)

Código del Test: **ATA** Color: **Agua**

Resumen y Explicación del Test

Los anticuerpos anti-peroxidasa tiroidea (anti-TPO) son autoanticuerpos dirigidos directamente contra la enzima peroxidasa del tiroides. Esta enzima cataliza la iodación de la tirosina en la tiroglobulina durante la biosíntesis de T3 y T4.[2]

Historicamente, estos anticuerpos fueron descritos como anticuerpos anti-microsomales (AMA), dado que se unían a la parte de los microsomas de las celulas tiroideas. Recientes investigaciones, han identificado a la

peroxidasa como el principal componente antigénico de los microsomas.[2,3,13]

Las enfermedades tiroideas autoinmunes son la causa principal del hipotiroidismo e hipertiroidismo y ocurren con mayor tendencia en población geneticamente predispuesta.

Las principales enfermedades autoinmunes son la tiroiditis de Hashimoto y la enfermedad de Graves.[13] Prácticamente todos los casos de la tiroiditis de Hashimoto y en la mayoría de los de la enfermedad de Graves, estan elevados los autoanticuerpos anti-TPO.[13] Altos niveles de anti-TPO, en el marco de un hipotiroidismo clínico, confirmaría el diagnostico de tiroiditis de Hashimoto.

Principio del Analysis

IMMULITE 2000 Anti-TPO es un ensayo inmunométrico enzimático secuencial en fase sólida por quimioluminiscencia.

Ciclos de incubación: 2 × 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 centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El Anti-TPO 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: 5 µl de muestra

Conservación: 2 días a 2–8°C, o congelado a –20°C para periodos mas largos.

Factor de Predilución automático: 100
Dispensa el volumen necesario de diluyente (L2AAZ) al tubo específico.

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.



¡PRECAUCIÓN! RIESGO BIOLÓGICO POTENCIAL
Contiene material de origen humano. Cada donación de sangre humana o componente sanguíneo ha sido probada por métodos aprobados por la FDA con el fin de detectar la presencia de anticuerpos de los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2), así como el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y el anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (VHC). Los resultados de estas pruebas fueron negativos (no repetidamente reactivos). Ninguna prueba ofrece total garantía de que en las muestras no haya estos agentes infecciosos u otros; por tanto, este material se deberá manipular conforme a las prácticas recomendables de laboratorio y las precauciones universales.[15-17]

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.





H311, H302, H411

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

¡Peligro! Tóxico en contacto con la piel. Nocivo en caso de ingestión. Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. Llevar guantes/prendas/gafas/ máscara de protección. Evitar su liberación al medio ambiente. EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico en caso de malestar. EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Llamar a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico en caso de malestar. Eliminar el contenido y el recipiente de acuerdo con las normativas locales, regionales y nacionales.
Contiene: 2-metil-2H-isotiazol-3-ona, azida de sodio; Ajustadores de Anticuerpos Anti-TPO

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

Seguir las precauciones universales y manipular 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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las canerias de cobre y plomo.

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

Agua: Usar agua destilada o desionizada.

Materiales Suministrados

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

Cartucho de bolas de Anticuerpos Anti-TPO (L2TO12)
Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anti-TPO humano purificado. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KTO2: 1 cartucho **L2KTO6:** 3 cartuchos

Vial de reactivo de Anticuerpos Anti-TPO (L2TOA2)
Con códigos de barras. 11,5 ml de matriz de buffer, con conservante. 11,5 ml de fosfatasa alcalina (de intestino bovino) conjugado con un anticuerpo monoclonal anti-IgG de ratón en buffer, con conservante. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KTO2: 1 vial **L2KTO6:** 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 Anticuerpos Anti-TPO (LTOL, LTOH)
Dos viales (bajo y alto), con anti-TPO en una matriz de suero/buffer humano, con conservante. 30 minutos, como mínimo, antes de su uso, reconstituya cada vial con **4,0 ml** de agua destilada o desionizada. Mezcle por agitación o inversión suave hasta que se haya disuelto completamente el material liofilizado. (No es necesaria ninguna dilución más.) Alicuotar y *congelar* en recipientes plásticos bien cerrados. Evitar las congelaciones y descongelaciones repetidas. Estable a 2–8°C durante 7 días después de la reconstitución, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KTO2: 1 juego **L2KTO6:** 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.

Diluyente para Anticuerpos Antitiroideos (L2AAZ)
Codigo: **TAD**. Para la dilución de las muestras del paciente que van a analizarse. 50 ml de un concentrado de una matriz tamponada, con conservante, sin anticuerpos anti-TG/anti-TPO (listo para su uso). Estable a 2–8°C durante

30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KTO2: 1 vial **L2KTO6:** 3 vials

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 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2KTO2: 3 etiquetas
L2KTO6: 5 etiquetas

Componentes del kit que se suministran por separado

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 × 100 mm)
L2ZC: 250 Casquillos Del Tubo Del Diluyente De la Muestra

LAACM: Modulo control con dos niveles

También disponibles
Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles.

Ensayo

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

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:
2 semanas

Muestras de Control de Calidad: Utilizar controles o pooles de sueros (bajo y alto) con al menos dos niveles diferentes de anti-TG y anti-TPO autoanticuerpos.

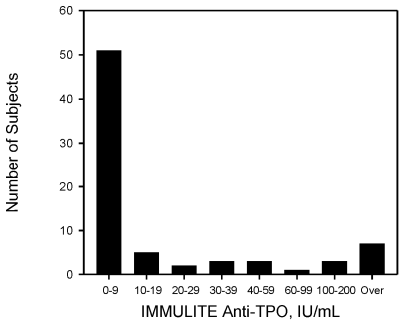
Valores Esperados

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

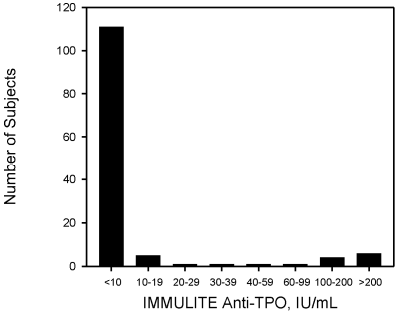
Los autoanticuerpos anti-TPO son únicos para cada paciente; por ello cada muestra de paciente podría mostrar sus propias caracteristicas de unión. Los niveles normales para la mayoría de los pacientes han sido definidos por debajo de 35 IU/ml en los ensayos con Anti-TPO IMMULITE. Un resultado igual o mayor a 35 IU/ml indicará una elevación de los autoanticuerpos anti-TPO en suero, mientras que resultados inferiores a 35 IU/ml indican un nivel normal de anti-TPO en suero. Debido a la alta variabilidad entre individuos es posible encontrar pacientes sin historia de enfermedad tiroidea con valores por encima de 35 IU/ml.

Dos estudios son presentados a continuación con dos poblaciones de muestras al azar.

Se relizaron ensayos de Anti-TPO IMMULITE, los niveles de autoanticuerpos anti-TPO fueron evaluados en 75 sujetos sanos (26 hombres y 49 mujeres), con edades comprendidas entre 13 y 87 años. Todos mostraron niveles normales de TSH, y ninguno tenía desordenes autoinmunes. Usando el punto de corte en 35 IU/ml, el 79% (59/75) de los sujetos mostraron valores de anti-TPO normales. El siguiente histograma muestra la distribución de los sujetos según los niveles de autoanticuerpos anti-TPO.



En otro estudio, Anti-TPO IMMULITE fue empleado para determinar los niveles de autoanticuerpos anti-TPO en 130 sujetos sanos. Usando el punto de corte recomendado de 35 IU/ml, 92% (118/130) de ellos mostraron niveles normales de anti-TPO. El siguiente histograma muestra la distribución de los sujetos según los niveles de autoanticuerpos anti-TPO.



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

Limitaciones
Para uso diagnostico exclusivamente, los resultados anti-TG deberían ser usados en combinación con otras determinaciones, y los resultados clinicos ser presentados al medico con toda la información oportuna. Los Autoanticuerpos son encontrados en menos del 10% de la población normal mostrando bajos niveles y en pacientes con enfermedad no-tiroidea, como en las enfermedades reumaticas inflamatorias.[14]

Las propiedades de unión de anticuerpos anti-TPO de pacientes y los usados en la calibración del ensayo, podrían ser diferentes. Esto podría dar lugar a desviaciones en los estudios del paralelismo de las diluciones para determinadas muestras de pacientes.

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

Características Analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo ver las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en IU/ml. (A 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).

Rango de Calibración: hasta 1 000 IU/ml (WHO 1st IRP 66/387)

Sensibilidad: 5,0 IU/ml

Efecto de gancho a altas dosis: Ninguno hasta 16 624 IU/ml

Precisión: Las muestras fueron ensayadas por duplicado durante el transcurso de 20 días, dos análisis por día, con un total de 40 análisis y 80 replicados. (Ver la tabla “Precision”.)

Linealidad: Las muestras fueron analizadas en varias diluciones. (Ver la tabla de “Linearity” para resultados representativos.)

Recuperación: Se analizaron muestras sobrecargadas 1 en 19 con tres soluciones anti-TPO (63, 207 y 520 IU/ml). (Ver la tabla de “Recovery” para resultados representativos.)

Tipo de Muestra Alternativa: para evaluar el efecto de los diferentes tipos de muestras alternativos, se recogió sangre de 20 voluntarios en tubos normales, tubos con Heparina, tubos con EDTA y tubos vacutainer SST de Becton Dickinson. Volúmenes iguales de las diferentes muestras fueron sobrecargadas con diferentes concentraciones de autoanticuerpos TPO, con la finalidad de cubrir todo el rango de calibración del ensayo, y procesadas con el procedimiento Anti-TPO IMMULITE 2000.

(Heparina) = 0,84 (Suero) + 17 IU/ml
r = 0,984

(EDTA) = 0,89 (Suero) + 15 IU/ml
r = 0,981

(SST) = 0,88 (tubos simples) + 17 IU/mL
r = 0,984

Medias:
299 IU/ml (Suero)
268 IU/ml (Heparina)
282 IU/ml (EDTA)
279 IU/mL (SST)

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina, en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Biotina: Las muestras que contienen biotina en una concentración de 1500 ng/ml han demostrado un cambio igual o inferior al 10% en los resultados. Una concentración de biotina superior a esta puede producir resultados incorrectos para las muestras del paciente.

Hemolisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 381 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 del Método: El ensayo fue comparado con el IMMULITE Anticuerpo Anti-TPO en 246 muestras de pacientes. (Rango de Concentración: aproximadamente 10 a 1 000 IU/ml. Ver el gráfico.) Por regresión linear:

(IML 2000) = 0,97 (IML) – 2,6 IU/ml
r = 0,987

Means:
188 IU/ml (IMMULITE 2000)
197 IU/ml (IMMULITE)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

IMMULITE 2000 Anti-TPO

Domaine d'utilisation : Dosage quantitatif des anticorps dirigés contre la thyropéroxydase (TPO) dans le sérum et le plasma EDTA. Ce test est réservé à un usage diagnostic *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000 et constitue une aide au diagnostic dans les pathologies thyroïdiennes.

Référence catalogue :
L2KTO2 (200 tests), **L2KTO6** (600 tests)

Code produit : **ATA**
Code couleur : **bleu vert**

Introduction

Les anticorps dirigés contre la thyropéroxydase (TPO) sont des auto-anticorps dirigés contre une enzyme, la péroxydase thyroïdienne. Cette enzyme catalyse l'iodination de la tyrosine au niveau de la thyroglobuline durant la biosynthèse de la T3 et de la T4.[2]

Historiquement, ces anticorps furent d'abord assimilés aux anticorps antimicrosomes (AMA) en raison de leur fixation sur les microsomes des cellules de la thyroïde. De récentes recherches ont démontré que la thyropéroxydase était l'antigène majeur des microsomes. [2,3,13]

La pathologie thyroïdienne autoimmune est la principale cause de l'hyperthyroïdie, et de l'hypothyroïdie, et semble apparaître dans des populations génétiquement prédestinées.

Les principales pathologies autoimmunes sont la thyroïdite de Hashimoto et la maladie de Basedow.[13] Virtuellement dans tous les cas de maladie d'Hashimoto et dans la majorité des cas de la maladie de Basedow, les taux d'auto-anticorps anti-TPO sont élevés.[13] Ces taux élevés d'auto-anticorps, dans le contexte d'une suspicion clinique d'hypothyroïdie, confirment le diagnostic de la maladie d'Hashimoto.

Principe du test

L'IMMULITE 2000 Anti-TPO est un test immunométrique séquentiel chimiluminescent par amplification enzymatique, 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 dûs 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 Anti-TPO 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 : 5 µl d'échantillon

Conditions de conservation : Stable 2 jours à 2–8°C ou plus longtemps à –20°C.

Facteur de predilution automatique: 100

Distribuer le volume de diluant (L2AAZ) nécessaire dans le tube avec code-barre correspondant.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.



AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL
Contient du matériel d'origine humaine. Chaque don de sang ou de composant sanguin humain a été testé selon des méthodes homologuées par la FDA afin de détecter la présence d'anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2), ainsi que la présence d'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) et d'anticorps anti-virus de l'hépatite C (VHC). Les résultats de ces tests se sont révélés négatifs (ou positifs mais de façon non répétable). Aucun test ne peut garantir totalement l'absence d'agents infectieux tels que ceux-ci ou d'autres. Par conséquent, ce matériel doit être manipulé conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux précautions universelles.[15-17]

ATTENTION : Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.





H311, H302, H411

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

Danger ! Toxique par contact cutané. Nocif en cas d'ingestion. Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. Éviter le rejet dans l'environnement. EN CAS D'INGESTION: Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. Éliminer les contenus et les contenants conformément à toutes les réglementations locales, régionales et nationales.
Contient : 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one, azide de sodium ; Ajusteurs Anti-TPO

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 la contamination et l'exposition directe au soleil. (Voir notice.)

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 Anti-TPO (L2TO12)
Avec code-barres. 200 billes revêtues de TPO humaine hautement purifiée. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KTO2 : 1 cartouche
L2KTO6 : 3 cartouches

Cartouche à réactif Anti-TPO (L2TOA2)
Avec code-barres. 11,5 ml de matrice tamponnée, avec conservateur. 11,5 ml d'anticorps monoclonal murin anti-IgG humaines marqué à la phosphatase alcaline (provenant des intestins de veau) dans un tampon, avec conservateur. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KTO2 : 1 cartouche
L2KTO6 : 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 Anti-TPO (LTOL, LTOH)
2 flacons d'ajusteurs (haut et bas) contenant d'auto-anticorps dans une matrice tampon/sérum humain, avec conservateur. 30 minutes au minimum avant l'emploi, reconstituer chaque flacon avec **4,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Mélanger doucement jusqu'à complète dissolution de la substance lyophilisée. (Aucune dilution supplémentaire n'est requise.) Aliquoter et *congeler* dans des récipients en plastique bien hermétiques. Eviter de multiplier les cycles congélation/ décongélation. Stable à 2–8°C pendant 7 jours après reconstitution, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KTO2 : 1 jeu **L2KTO6 :** 2 jeux

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

Diluant Echantillon Auto-Anticorps Thyroïdiens (L2AAZ)
Code produit : **TAD**. Pour la dilution à bord des échantillons de patients. 50 ml de matrice tamponnée, avec conservateur, concentrée sans anticorps anti-TPO, ni Anti-Tg, prête à l'emploi. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KTO2 : 1 flacon **L2KTO6 :** 3 flacons

Les étiquttes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 × 100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2KTO2: 3 étiquettes
L2KTO6: 5 étiquettes

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)
L2ZT : 250 Tubes À essai De Diluant échantillon (16 × 100 mm)
L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

LAACM : Contrôle à deux niveaux

Egalement requis
Eau distillée ou désionisée ; tubes à essai ; contrôles

Protocole de dosage

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

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

Intervalle d'ajustement recommandé :
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) d'anti-TG et d'anti-TPO auto-anticorps.

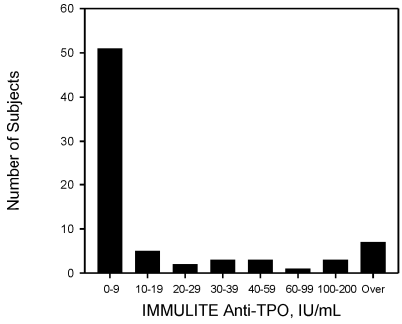
Valeurs attendues

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

Le profil immunologique de chaque patient est unique, chacun présentant ses propres caractéristiques. Néanmoins, les taux normaux pour la plupart des patients ont été trouvés < 35 UI/ml par la méthode IMMULITE Anti-TPO. Une valeur supérieure ou égale à 35 UI/ml indique un taux élevé d'anticorps anti-TPO dans le sérum alors qu'un taux inférieur à 35 UI/ml sera considéré comme normal. Toutefois, en raison de la variabilité individuelle, il est également possible qu'un patient normal sans antécédent de pathologie thyroïdienne présente des taux élevés et reproductibles d'anticorps anti-TPO supérieurs à 35 UI/ml.

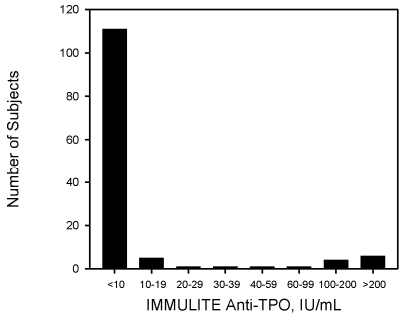
Les deux études rapportées ici démontrent cette variabilité entre deux populations prises au hasard.

Les taux d'anticorps anti-TPO ont été mesurés avec la trousse IMMULITE anti-TPO chez 75 sujets apparemment en bonne santé (26 hommes et 49 femmes) dont l'âge était compris entre 13 et 87 ans. Tous ces sujets présentaient un taux normal de TSH et aucune trace de pathologie thyroïdienne auto-immune. En appliquant la valeur seuil de 35 UI/ml, 79% (59/75) des patients présentaient un taux normal d'anti-TPO. L'histogramme ci-dessous présente la distribution des différents valeurs d'anti-TPO.



Number of Subjects : Nombre d'individus

Dans une seconde étude, les taux d'anticorps anti-TPO ont été mesurés avec la trousse IMMULITE Anti-TPO chez 130 patients apparemment en bonne santé. En utilisant la valeur seuil préconisée à 35 UI/ml, 92% (118/130) des patients présentaient un taux normal d'anti-TPO. L'histogramme ci-contre présente la distribution des différentes valeurs d'anti-TPO.



Number of Subjects : Nombre d'individus

Ces valeurs sont fournies *à titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

Limites

Lors d'une utilisation diagnostique, les résultats des dosages d'anti-TPO doivent être analysés en conjonction avec le résultat d'autres tests et les données cliniques. Des auto-anticorps peuvent être trouvés à de faibles concentrations chez environ 10% des sujets sains et chez les patients souffrant de pathologies sévères non thyroïdiennes (NTI), comme les maladies inflammatoires rhumatismales.[14]

Les auto-anticorps Anti-TPO des patients et les anticorps utilisés pour la calibration du test peuvent présenter des capacités de liaison différentes. Ceci peut expliquer des différences observées lors des tests de dilution pour certains échantillons.

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

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en UI/ml. (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.)

Domaine de mesure : jusqu'à 1 000 UI/ml (OMS 1st IRP 66/387).

Sensibilité analytique : 5,0 UI/ml.

Effet-crochet : aucun jusqu'à 16 624 UI/ml.

Précision : les échantillons ont été dosés en duplicate pendant 20 jours, soit 2 dosages par jour, pour un total de 40 séries et 80 réplicates. (Voir le tableau « Precision ».)

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

Test de récupération: les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions (63, 207 et 520 UI/ml). (Voir le tableau " Recovery " pour des données représentatives.)

Autres types d'échantillons: pour estimer l'effet de l'utilisation de différents type d'échantillons, 20 volontaires ont été prélevés sur tubes secs, héparinés, EDTA et sur tubes vacutainer SST® Becton Dickinson. Des volumes égaux de ces différents échantillons ont été mélangés avec plusieurs concentrations d' auto-anticorps anti-TPO pour obtenir des valeurs à l'intérieur du domaine de mesure du test puis dosés avec le protocole l'IMMULITE 2000 Anti-TPO.

(Héparine) = 0,84 (Sérum) + 17 UI/ml
r = 0,984

(EDTA) = 0,89 (Sérum) + 15 UI/ml
r = 0,981

(SST) = 0,88 (tubes ordinaires) + 17 IU/mL
r = 0,984

Moyennes :
299 UI/ml (Sérum)
268 UI/ml (Héparine)
282 UI/ml (EDTA)
279 IU/mL (SST)

Bilirubine : La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

Biotine : Les échantillons contenant de la biotine à une concentration de 1500 ng/ml présentent un changement de résultats inférieur ou égal à 10 %. Des concentrations de biotine supérieures à cette valeur peuvent entraîner des résultats d'échantillons patients erronés.

Hémolyse : La présence d'hémoglobine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 381 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 au test IMMULITE Anti-TPO sur 246 échantillons (dont les concentrations allaient d'environ 10 à 1 000 UI/ml. Voir graphique.) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 0,97 (IML) – 2,6 UI/ml
r = 0,987

Moyennes :
188 UI/ml (IMMULITE 2000)
197 UI/ml (IMMULITE)

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

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

Italiano

IMMULITE 2000 Anti-TPO Ab

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa degli Anticorpi anti-perossidasi tiroidea (TPO) nel siero e nel plasma EDTA, come ausilio nella diagnosi clinica di patologie tiroidee.

Codice: **L2KTO2** (200 test),
L2KTO6 (600 test).

Codice del Test: **ATA** Colore: **Acqua**

Riassunto e spiegazione del Test

Gli anticorpi anti-perossidasi tiroidea (TPO) sono autoanticorpi diretti contro l'enzima perossidasi tiroidea. Questo enzima catalizza la iodinazione della tirosina in tireoglobulina durante la biosintesi del T3 e del T4.[2]

Storicamente, si è fatto riferimento a questi anticorpi come ad anticorpi antimicrosomiali (AMA) poiché gli anticorpi si legano alla parte microsomiale delle cellule tiroidee. La ricerca recente ha identificato la perossidasi quale prima componente antigenica dei microsomi.[2,3,13]

Le malattie tiroidee autoimmuni sono il principale fattore che pone in evidenza l'ipotiroidismo e l'ipertiroidismo e tendono a verificarsi in una popolazione con predisposizione genetica.

Le principali malattie tiroidee autoimmuni sono: la tiroidite di Hashimoto, e la malattia di Graves.[13] Virtualmente in tutti i casi di Malattia di Hashimoto e nella maggior parte dei casi di Malattia di Graves, gli autoanticorpi anti-TPO sono elevati.[13] Livelli elevati di autoanticorpi anti-TPO all'interno di un quadro clinico di ipotiroidismo, conferma la diagnosi di Malattia di Hashimoto.

Principio del procedimento

IMMULITE 2000 Anti-TPO é un dosaggio chemiluninescente sequenziale immunometrico in fase solida marcato con enzima.

Cicli d'incubazione: 2 × 30 minuti

Raccolta del Campione

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

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

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. L'IMMULITE 2000 Anti-TPO Ab non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume richiesto: 5 µL di campione

Conservazione: 2 giorni a 2–8°C o congelati per periodi più lunghi a –20°C.

Fattore Automatico di Pre-Diluizione: 100

Dispensare il volume richiesto di diluente (L2AAZ) all'interno di una provetta etichettata con codice a barre.

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.



ATTENZIONE! POTENZIALE PERICOLO BIOLOGICO
Contiene materiale di origine umana. Ciascuna donazione di sangue o componenti ematici umani è stata testata con metodi approvati dalla FDA per rilevare la presenza di anticorpi al virus dell'immunodeficienza umana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2), nonché per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e gli anticorpi al virus dell'epatite C (HCV). I risultati del test sono stati negativi (non ripetutamente reattivi). Nessun test offre assicurazione completa che questi o altri agenti infettivi siano assenti; questo materiale va trattato utilizzando le corrette prassi di laboratorio e le precauzioni universali.[15-17]

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale portatore e trasmettitore di agenti patogeni.





H311, H302, H411

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

Pericolo! Tossico per contatto con la pelle. Nocivo se ingerito. Tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. Non disperdere nell'ambiente. IN CASO DI INGESTIONE: In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. Smaltire il prodotto e il contenitore in conformità con tutte le disposizioni locali, regionali e nazionali.
Contiene: 2-metil-2H-isotiazol-3-one, sodio azide; Calibratori anti-TPO Ab

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

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati dal sangue umano sono stati testati con esito negativo per la Sifilide, gli Anticorpi anti-HIV 1 e 2, l'Antigene di Superficie dell'Epatite B e 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 unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

Contenitore di Sferette anti-TPO Ab (L2TO12)
Con codice a barre. 200 sferette coattate con TPO umano altamente purificato. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KTO2: 1 confezione
L2KTO6: 3 confezioni

Porta Reagente anti-TPO Ab (L2TOA2)
Con codice a barre. 11,5 mL di una matrice/tampone, con conservanti. 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con anticorpi monoclonali di topo anti-IgG umane in tampone, con conservanti. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KTO2: 1 Porta Reagente
L2KTO6: 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.

Calibratori anti-TPO Ab (LTOL, LTOH)
Due flaconi (Basso ed Alto), con autoanticorpi anti-TPO in una matrice umana di siero/tampone, con conservanti. Almeno 30 minuti prima dell'uso, ricostituire ogni flacone con **4,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Mescolare agitando delicatamente o invertendo la miscela finchè il materiale liofilo sia completamente dissolto. (Non è necessaria ulteriore diluizione.) Aliquotare

e congelare in contenitori di plastica con coperchio a chiusura ermetica. Evitare cicli di congelo/scongelo ripetuti. Stabile a 2–8°C per 7 giorni dopo la ricostituzione, e per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KTO2: 1 set **L2KTO6:** 2 set

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

Diluente del Campione (L2AAZ)
Codice del Test: **TAD**. Per la diluizione interna dei campioni dei pazienti. 50 mL di una matrice/tampone, con conservanti, priva di anticorpi anti-TG/anti-TPO, concentrata e (pronta all'uso). Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotata) a –20°C.
L2KTO2: 1 flacone **L2KTO6:** 3 flaconi

Vengono Fornite Le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm cosicchè i codici a barre possano essere letti dal lettore interno
L2KTO2: 3 etichette
L2KTO6: 5 etichette

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)
L2ZT: 250 Provette (16 × 100 mm) per Diluente del Campione
L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluente del Campione

LAACM: Modulo di controllo a due livelli

Materiali richiesti
Acqua distillata o deionizzata; provette di vetro; controlli.

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 2 settimane

Controllo di Qualità: Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (Alto e Basso) di autoanticorpi anti-TG ed anti-TPO.

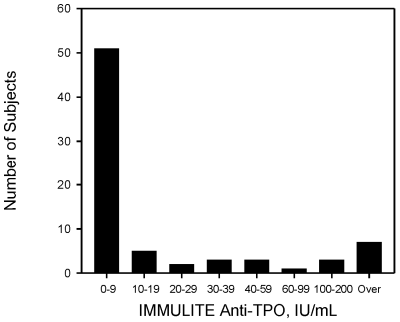
Valori Attesi

Data l'affinità con l'Anti-TPO Ab IMMULITE (vedi "Comparazione dei Metodi") ci si attende che il dosaggio abbia gli stessi range di riferimento.

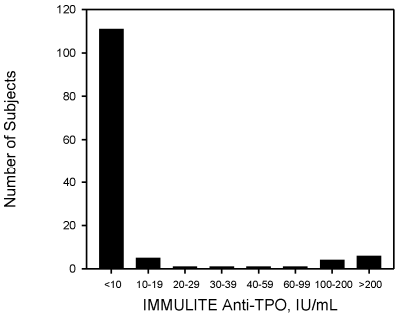
Gli autoanticorpi anti-perossidasi tiroidea sono peculiari di ogni paziente; quindi, ogni campione presenterà le proprie caratteristiche di legame. Per il dosaggio IMMULITE Anti-TPO Ab sono stati definiti i livelli normali per la maggior parte dei pazienti inferiori a 35 IU/mL. Un risultato numerico più elevato o uguale a 35 IU/mL indica un livello sierico di anti-TPO elevato, mentre un risultato inferiore a 35 IU/mL indica un livello sierico di Anti-TPO *normale*. Tuttavia, a causa della variabilità individuale è anche possibile che un paziente normale con nessun precedente di malattia tiroidea possa presentare livelli elevati riproducibili superiori a 35 IU/mL.

A seguire sono stati presentati due studi che dimostrano la variabilità tra due popolazioni prese a caso.

Utilizzando il dosaggio IMMULITE Anti-TPO Ab, i livelli di autoanticorpi anti-TPO sono stati determinati per 75 pazienti apparentemente sani (26 maschi e 49 femmine), di età compresa tra 13 ed 87 anni. Tutti presentavano livelli normali di TSH e nessuno aveva disturbi tiroidei autoimmuni. Utilizzando il cut-off consigliato di 35 IU/mL, il 79% (59/75) dei soggetti presentavano valori normali di anti-TPO. Il seguente istogramma mostra la distribuzione dei soggetti per livelli diversi di autoanticorpi anti-TPO.



In un altro studio, è stata utilizzata la procedura dell' IMMULITE Anti-TPO Ab per determinare i livelli di autoanticorpi anti-TPO di 130 soggetti apparentemente sani. Utilizzando il cut-off consigliato di 35 IU/mL, il 92% (118/130) dei pazienti presentavano livelli normali di anti-TPO. Il seguente istogramma mostra la distribuzione dei pazienti per livelli diversi di autoanticorpi.



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

Limiti

A scopo diagnostico, i risultati anti-TPO devono essere utilizzati unitamente ad altri risultati del test quali la presentazione clinica al medico, ed altre informazioni pertinenti. Gli autoanticorpi sono riscontrabili a livelli bassi in meno del 10% della popolazione normale ed in pazienti con malattie non-tiroidee, quali le infiammazioni reumatiche.[14]

Pazienti con autoanticorpi anti-TPO ed anticorpi utilizzati per calibrare il dosaggio possono differire nelle loro proprietà leganti. Ciò può portare, per alcuni campioni, a deviazioni dallo stretto parallelismo di diluizione.

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi *in vitro*. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34:27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedi tavole e grafici per dati *rappresentativi*. I risultati sono indicati in IU/mL. (Laddove non diversamente specificato, tutti i dati sono stati generati su campioni di siero raccolti in provette senza gel separatore o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.)

Range di calibrazione: a 1 000 IU/mL (WHO 1st IRP 66/387)

Sensibilità analitica: 5,0 IU/mL

Effetto Gancio per Dosi Elevate: Nessuno fino a 16 624 IU/mL

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

Linearità: Sono stati dosati campioni in varie forme diluite. (Vedi la Tabella "Linearity" per dati rappresentativi.)

Recupero: Sono stati dosati campioni 1:19 ai quali sono state aggiunte tre soluzioni di anti-TPO (63, 207 e 520 IU/mL. Vedi la Tabella "Recovery" per dati rappresentativi.)

Tipo di Campione Alternativo:
Per determinare l'effetto di campioni alternativi, è stato prelevato del sangue da 20 volontari in provette semplici, eparinizzate, EDTA e Becton Dickinson vacutainer SST. Ad ugual volumi di campioni misti sono state aggiunte varie concentrazioni di autoanticorpi TPO per ottenere valori lungo l'intero range di calibrazione del dosaggio e quindi dosati con il kit IMMULITE 2000 Anti-TPO Ab.

(Eparina) = 0,84 (Siero) + 17 IU/mL
r = 0,984

(EDTA) = 0,89 (Siero) + 15 IU/mL
r = 0,981

(SST) = 0,88 (tubi semplici) + 17 IU/mL
r = 0.984

Valore Medio:
299 IU/mL (Siero)
268 IU/mL (Eparina)
282 IU/mL (EDTA)
279 IU/mL (SST)

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

Biotina: I campioni che contengono biotina a una concentrazione di 1500 ng/mL dimostrano una variazione nei risultati inferiore o pari al 10%. Le concentrazioni di biotina superiori a questo valore potrebbero portare a risultati non corretti dei campioni dei pazienti.

Emolisi: La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 381 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.

Comparazione dei Metodi: Il dosaggio è stato comparato all'Anti-TPO Ab IMMULITE su 246 campioni di pazienti. (Range di concentrazione: da 10 fino a 1 000 IU/mL. Vedi grafico.) Con regressione lineare:

(IML 2000) = 0,97 (IML) – 2,6 IU/mL
r = 0,987

Valore medio:
188 IU/mL (IMMULITE 2000)
197 IU/mL (IMMULITE)

Assistenza Tecnica

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

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

Anti-TPO

Utilização: Para o diagnóstico *in vitro*. Doseamento quantitativo da anti-peroxidase no soro e plasma EDTA em conjunto com os analisadores dos sistemas IMMULITE 2000, no auxílio da avaliação clínica da função tiroideia.

Números de catálogo:
L2KTO2 (200 testes)
L2KTO6 (600 testes)

Código do teste: **ATA** Cor: **Aqua**

Sumário e explicação do teste

Os anticorpos antiperoxidase da tiroide (anti-TPO) são autoanticorpos direccionados contra a enzima peroxidase da tiroide. Esta enzima cataliza a iodonização da tiroxina na tiroglobulina durante a biosíntese da T3 e da T4.[2]

Historicamente, estes anticorpos foram referidos como sendo anticorpos antimicrossomais (AMA) devido à ligação dos anticorpos à zona microssomal das células tiroideias. Investigações recentes têm identificado a peroxidase da tiroide como o componente antigénico primário dos microssomas.[2,3,13]

A doença autoimune da tiroide é o principal factor que sustenta o hipotiroidismo e o hipertiroidismo e tende a ocorrer numa população genéticamente predisposta.

As doenças de autoimunidade da tiroide são essencialmente: a tiroidite de Hashimoto e a doença de Graves.[13] Os autoanticorpos anti-TPO, apresentam-se elevados em virtualmente todos os casos de doença de Hashimoto e na maioria dos casos da doença de Graves.[13] Elevados níveis de anticorpos anti-TPO, no contexto

de uma apresentação clínica de hipotiroidismo, confirma o diagnóstico da doença de Hashimoto.

Princípio do procedimento

IMMULITE 2000 Ab Anti-TPO é um ensaio imunométrico sequencial de fase sólida, de enzimas quimicoluminosas.

Ciclos de incubação: 2 × 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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 Anti-TPO não foram ainda testados com todas as possiveis 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: 5 µl de amostra

Estabilidade: 2 dias a 2–8°C, para períodos mais longos, congelar a –20°C.

Factor de pré-diluição automática: 100

Dispensar o volume de diluente (L2AAZ) necessário para um tubo de ensaio apropriado com etiqueta de código de barras aplicada.

Precauções

Para diagnóstico *in vitro*.



PRECAUÇÃO! POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO
Contém material de origem humana. Cada dádiva de sangue ou componente de sangue humano foi testada pelos métodos aprovados pela FDA quanto à presença de anticorpos dos vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e tipo 2 (VIH-2), bem como do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e dos anticorpos do vírus da hepatite C (VHC). Os resultados dos testes foram negativos (não repetidamente reativos). Nenhum teste oferece total garantia de que estes ou outros agentes infeciosos estejam ausentes; este material deve ser manuseado de acordo com as boas práticas laboratoriais e precauções universais.[15-17]

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.





H311, H302, H411

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

Perigo! Tóxico em contacto com a pele. Nocivo por ingestão. Tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. Usar luvas de protecção/ vestuário de protecção/ protecção ocular/protecção facial. Evitar a libertação para o ambiente. EM CASO DE INGESTÃO: Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. Eliminar o conteúdo e o recipiente em conformidade com todos os regulamentos locais, regionais e nacionais.
Contém: 2-metil-2H-isotiazol-3-ona, azida de sódio; Ajustes de Anti-TPO Ab

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, dando 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).

Água: Utilize água destilada ou desionizada.

Materiais fornecidos

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

Embalagem de pérolas de Anti-TPO Ab (L2TO12)
Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com TPO humana, altamente purificada. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KTO2: 1 embalagem
L2KTO6: 3 embalagens

Embalagem de reagentes de Anti-TPO Ab (L2TOA2)
Com código de barras. 11,5 ml de matriz em tampäp, com conservante. 11,5 ml de fosfatase alcalina (intestino de vitela) conjugada com anticorpo monoclonal de murino, anti-IgG em tampão, com conservante. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KTO2: 1 embalagem
L2KTO6: 3 embalagens

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

Ajustes de Anti-TPO Ab (LTOL, LTOH)
Contém dois frascos (nível alto e baixo) com autoanticorpos TPO, numa matriz de soro humano tamponizada, com conservante. Pelo menos 30 minutos antes do uso, reconstitua cada frasco com **4,0 mL** de água destilada ou desionizada. Misture por inversão ou movimentos lentos até o material liofilizado dissolver completamente. (Não é necessária diluição adicional.) Divida em alíquotas e *congele* em recipientes plásticos bem fechados. Evite ciclos repetidos de congelamento/ descongelamento. Estável, após a reconstituição, durante 7 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KTO2: 1 conjunto **L2KTO6:** 2 conjuntos

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

Diluente da amostra de autoanticorpos da tiroide (L2AAZ):
Código do teste: **TAD**. Para a diluição automática no aparelho de amostras de doentes. 50 mL de concentrado (pronto a usar) constituido de matriz tamponizada, com conservante, livre de anticorpos anti-TG/anti-TPO. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KTO2: 1 frasco **L2KTO6:** 3 frascos

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2KTO2: 3 etiquetas
L2KTO6: 5 etiquetas

Componentes do kit fornecidos separadamente

L2SUBM: Substrato quimioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Kit de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)
L2ZT: 250 Tubos de diluente da amostra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

LAACM: Módulo de controlo com 2 níveis

Também necessário
Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos.

Procedimento do doseamento

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

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

Intervalo entre ajustes aconselhável:
2 semanas

Amostras de controlo de qualidade:
utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de anticorpos de TG e TPO.

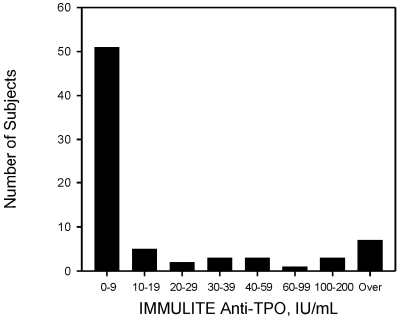
Valores de Referência

Baseado na sua relção com a Anti-TPO Ab IMMULITE (ver compara ção de métodos), pode-se esperar que o doseamento tenha valores de referência indênticos.

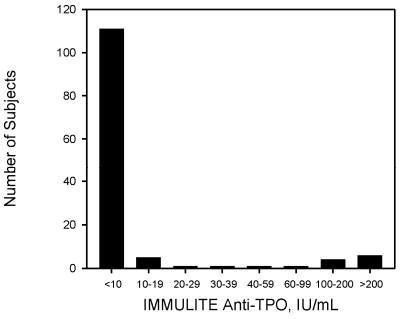
Os autoanticorpos para a peroxidase da tiriode são únicos para cada paciente; visto isto, cada paciente irá apresentar as suas próprias características de ligação. Os níveis normais para a maioria dos pacientes têm sido defenidos como sendo inferiores a 35IU/mL pelo método de doseamento dos anticorpos anti-TPO do IMMULITE. Um resultado numérico superior ou igual a 35 IU/mL é indicador de um nível de anticorpos anti-TPO elevado no soro, enquanto que um resultado inferior a 35 IU/mL é indicador de um nível de anticorpos anti-TPO *normal* no soro. No entanto, devido à variabilidade individual é possível que em pacientes normais, sem historia de doença tiroideia, surjam valores reproductíveis superiores a 35 IU/mL.

Dois estudos demonstrativos da variabilidade entre duas populações aleatórias são apresentados em baixo.

Utilizando o método de doseamento Anti-TPO Ab IMMULITE, os níveis de anticorpos TPO foram determinados para 75 indivíduos aparentemente saudáveis (26 homens e 49 mulheres), com idades compreendidas entre os 13 e os 87 anos. Todos tinham níveis normais de TSH, e nenhum tinha doenças autoimunes de tiroide. Utilizando o cutoff recomendado de 35 IU/mL, 79% (59/75) dos indivíduos apresentavam valores normais de anti-TPO. O seguinte histograma mostra a distribuição de indivíduos para níveis diferentes de autoanticorpos de TPO.



Num outro estudo, o procedimento Anti-TPO Ab IMMULITE, foi utilizado para determinar níveis de autoanticorpos de TPO em 130 indivíduos aparentemente saudáveis. Utilizando o cutoff recomendado de 35 IU/ml, 92% (118/130) dos indivíduos apresentavam valores normais de anti-TPO. O seguinte histograma mostra a distribuição de indivíduos para níveis diferentes de autoanticorpos de TPO.



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

Limitações

Para fins de diagnóstico, os resultados de anti-TPO devem ser usados em conjunto com os resultados de outros testes, com toda a apresentação clínica ao médico, e com toda a restante informação clínica apropriada. Baixos níveis de autoanticorpos poderão ser encontrados em menos de 10% da população normal e em pacientes com doenças não-tiroideias, como por exemplo doenças reumáticas inflamatórias.[14]

Os autoanticorpos de TPO de pacientes e os anticorpos utilizados para calibração do ensaio podem diferir nas suas propriedades de ligação. Isto poderá conduzir a desvios de paralelismo nas diluições para algumas amostras de pacientes.

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

Consulte Tabelas e Gráficos para dados *representativos* do desempenho do doseamento. Os resultados são apresentados em IU/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.)

Calibração: até 1 000 IU/ml. (WHO 1st IRP 66/387)

Sensibilidade Analítica: 5,0 IU/ml

Efeito Hook de Alta Dose: Nenhum até 16 624 IU/ml

Precisão: As amostras foram ensaiadas em duplicado ao longo de 20 dias, dois ensaios por dia, para um total 40 ensaios e 80 réplicas. (Consulte a tabela "Precision".)

Linearidade: As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. (Ver a tabela de "Linearity" para dados representativos.)

Recuperação: Amostras adicionadas na relação de 1 para 19 com três soluções de anti-TPO Ab (63, 207 e 520 IU/ml) foram doseadas. (Ver tabela "Recovery" para dados representativos.)

Tipo de amostra alternativa: Para determinar o efeito de amostras alternatives, foi colhido sangue de 20 voluntários em tubos secos, com EDTA, heparinizados e tubos de vacum SST da Becton Dickinson. A volumes iguais das mesmas amostras foram adicionadas várias concentrações de auto-anticorpos TPO para obter valores ao longo da gama de calibração do ensaio. As amostras foram doseadas com o IMMULITE 2000 Anti-TPO.

(Heparina) = 0,84 (Soro) + 17 IU/ml
r = 0,984

(EDTA) = 0,89 (Soro) + 15 IU/ml
r = 0,981

(SST) = 0,88 (tubos simples) + 17 IU/mL
r = 0,984

Médias:
299 IU/ml (Soro)
268 IU/ml (Heparina)
282 IU/ml (EDTA)
279 IU/mL (SST)

Bilirrubina: A presença de bilirrubina em concentrações até 200 mg/L não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Biotina: As amostras que contenham biotina a uma concentração de 1500 ng/ml demonstram uma alteração igual ou inferior a 10% nos resultados. Concentrações de biotina superiores a esta poderão originar resultados incorretos para as amostras de doentes.

Hemolise: A presença de hemoglobina em concentrações até 381 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipemia: A presença de triglicéridos em concentrações até 3 000 mg/dL não tem

efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Comparação de métodos: O doseamento foi comparado ao Anti-TPO Ab IMMULITE em 246 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 10 a 1 000 IU/ml. Ver gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 0,97 (IML) – 2,6 IU/ml
r = 0,987

Médias:
188 IU/ml (IMMULITE 2000)
197 IU/ml (IMMULITE)

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE is a trademark of
Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2009 Siemens Healthcare Diagnostics.
All rights reserved.

Made in: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

2018-03-15

PIL2KTO – 24

cc#EU23262, cc#EU23262A, cc#EU23343

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol Definition

IVD

En: *In vitro* diagnostic medical device
De: Medizinisches Gerät zur *In-vitro* Diagnose
Es: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
Fr: Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
It: Dispositivo medico per diagnostica *in vitro*
Pt: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

REF

En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo

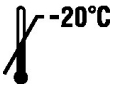
En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante

EC REP

En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia

CE

En: CE Mark
De: CE-Kennzeichen
Es: Marca CE
Fr: Marque CE
It: Marchio CE
Pt: Marca CE

Symbol	Definition
CE 0088	**En:** CE Mark with identification number of notified body **De:** CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle **Es:** Marca CE con número de identificación del organismo notificado **Fr:** Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié **It:** Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato **Pt:** Marca CE, com número de identificação do organismo notificado
	**En:** Consult instructions for use **De:** Bedienungshinweise beachten **Es:** Consulte las instrucciones de uso **Fr:** Consulter le mode d'emploi **It:** Consultare le istruzioni per l'uso **Pt:** Consulte as instruções de utilização
	**En:** Caution! Potential Biohazard **De:** Vorsicht! Biologisches Risikomaterial **Es:** ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial **Fr:** Avertissement ! Risque biologique potentiel **It:** Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico **Pt:** Atenção! Potenciais Riscos Biológicos
	**En:** Temperature limitation (2–8°C) **De:** Temperaturgrenze (2–8°C) **Es:** Limitación de temperatura (2–8°C) **Fr:** Limites de température (2–8°C) **It:** Limiti di temperatura (2–8°C) **Pt:** Limites de temperatura (2–8°C)
	**En:** Upper limit of temperature (≤ -20°C) **De:** Obere Temperaturgrenze (≤ -20°C) **Es:** Límite superior de temperatura (≤ -20°C) **Fr:** Limite supérieure de température (≤ -20°C) **It:** Limite superiore di temperatura (≤ -20°C) **Pt:** Limite máximo de temperatura (≤ -20°C)

Symbol	Definition
	**En:** Lower limit of temperature (≥2°C) **De:** Mindesttemperatur (≥2°C) **Es:** Límite inferior de temperatura (≥2°C) **Fr:** Limite inférieure de température (≥2°C) **It:** Limite inferiore di temperatura (≥2°C) **Pt:** Limite mínimo de temperatura (≥2°C)
	**En:** Do not freeze (> 0°C) **De:** Nicht einfrieren (> 0°C) **Es:** No congelar (> 0°C) **Fr:** Ne pas congeler (> 0°C) **It:** Non congelare (> 0°C) **Pt:** Não congelar (> 0°C)
	**En:** Do not reuse **De:** Nicht zur Wiederverwendung **Es:** No reutilizar **Fr:** Ne pas réutiliser **It:** Non riutilizzare **Pt:** Não reutilizar
	**En:** Keep away from sunlight **De:** Vor Sonneneinstrahlung schützen **Es:** Proteger de la luz solar **Fr:** Maintenir hors de portée de la lumière du soleil **It:** Non esporre alla luce del sole **Pt:** Manter afastado da luz solar
LOT	**En:** Batch code **De:** Chargenbezeichnung **Es:** Número de lote **Fr:** Numéro de code du lot **It:** Codice lotto **Pt:** Código de lote
	**En:** Contains sufficient for (n) tests **De:** Es reicht für (n) Tests **Es:** Contiene suficiente para (n) pruebas **Fr:** Contient du matériel suffisant pour (n) tests **It:** Contiene materiale sufficiente per (n) test **Pt:** Contém o suficiente para (n) testes
2008-01	**En:** Date format (year-month) **De:** Datumsformat (Jahr-Monat) **Es:** Formato de fecha (año-mes) **Fr:** Format de la date (année-mois) **It:** Formato data (anno-mese) **Pt:** Formato de data (ano-mês)

Symbol	Definition
	**En:** Use by **De:** Verwendbar bis **Es:** Fecha de caducidad **Fr:** A utiliser avant **It:** Usare entro **Pt:** Usar até
	**En:** Health Hazard **De:** Gesundheitsgefährdung **Es:** Peligro para la salud **Fr:** Dangereux pour la santé **It:** Pericolo per la salute **Pt:** Perigo para a saúde
	**En:** Exclamation Mark **De:** Ausrufezeichen **Es:** Signo de exclamación **Fr:** Point d'exclamation **It:** Punto esclamativo **Pt:** Ponto de exclamação
	**En:** Corrosion **De:** Korrosion **Es:** Corrosión **Fr:** Corrosion **It:** Corrosione **Pt:** Corrosão
	**En:** Skull and Crossbones **De:** Totenkopf mit gekreuzten Knochen **Es:** Calavera y tibias cruzadas **Fr:** Tête de mort sur tibias croisés **It:** Teschio e tibie incrociate **Pt:** Caveira sobre tíbias cruzadas
	**En:** Environment **De:** Umwelt **Es:** Medio ambiente **Fr:** Environnement **It:** Ambiente **Pt:** Ambiente
BEAD PACK	**En:** Bead Pack **De:** Kugel-Container **Es:** Cartucho de bolas **Fr:** Cartouche de billes **It:** Contenitore di biglie **Pt:** Embalagem de esferas
TEST UNIT	**En:** Test Unit **De:** Testeinheit **Es:** Unidades de análisis **Fr:** Unité de test **It:** Test Unit **Pt:** Unidades de Teste

Symbol	Definition
REAG WEDGE **REAG WEDGE A** **REAG WEDGE B** **REAG WEDGE D**	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL **CONTROL 1** **CONTROL 2** **CONTROL 3**	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo

Symbol	Definition
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol

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

IMMULITE® 2000

CEA

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 CEA

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the quantitative measurement of carcinoembryonic antigen (CEA) in serum, as an aid in the management of cancer patients and in the assessment of prognosis.

Catalog Number: **L2KCE2** (200 tests), **L2KCE6** (600 tests)

Test Code: **CEA** Color: **Light Green**

Summary and Explanation

Carcinoembryonic antigen (CEA) comprises a heterogeneous family of glycoproteins ranging in weight from 175,000 to 200,000 daltons due to varying carbohydrate and amino acid content. Its biological function is not well defined, but it may play a role in intercellular recognition, regulation of the immune response, and metastasis of colorectal cancer.[6] The name derives from the previous belief that CEA occurred only in gastrointestinal carcinomas and the fetal digestive tract. Elevated levels have since been detected in a number of malignant and nonmalignant conditions of the gastrointestinal tract and other sites. These conditions include various hepatic diseases; inflammatory lesions, particularly of the gastrointestinal tract; infections; trauma; infarction; collagen vascular disease; renal impairment; and smoking (current and past).[2] CEA also occurs at low levels in normal colon and other tissues. Serum values in healthy adults are generally less than 5 ng/mL.[7] Though serum values exceeding five times the normal range usually indicate malignancy, values seen in malignant and nonmalignant conditions can overlap considerably, ruling out the use of CEA as a screen for malignancy. The value of CEA measurement lies, instead, in patient prognosis, status assessment, and monitoring.

Until 1980, the only assay method for CEA used in the United States was a radioimmunoassay requiring extraction. Since then, several other nonextraction RIAs and sandwich-type EIAs have been developed for use on serum and plasma samples.

CEA levels at diagnosis of colorectal carcinoma (CRC) correlate with prognosis.[5] Elevated preoperative serum CEA predicts increased risk of recurrence[6] or hepatic metastases.[4] The site of the primary cancer may influence interpretation of elevated CEA: in colon carcinomas, high CEA levels indicate a poor prognosis, but not necessarily so in rectal carcinomas.[9] In addition, monitoring levels during chemotherapy before surgery can be informative, and failure of CEA to fall during preoperative radio-therapy usually indicates the presence of a tumor outside the field of radiation and a poorer prognosis.[3] Preoperative elevated CEA has also been observed to correlate inversely with estimated mean time to recurrence,[4] and to correlate directly with degree of tumor stage, thickness, and differentiation in CRC patients at diagnosis.[3,4,9] CEA is not always elevated, however, in sera of those with poorly differentiated CRCs, which produce less CEA but which are more aggressive than moderately or well-differentiated carcinomas.[3,6] Rising CEA is deemed the most accurate indicator of recurrence in CRC.[5,8] Levels decrease to normal in nearly all patients after complete resection of CRCs, usually within 4 to 6 weeks after surgery.[3] Failure to decline after surgery may suggest incomplete resection,[5] and increasing levels can precede recurrent CRCs an average of 4 to 6 months before they are clinically evident in about two-thirds of cases.[3,5,8] Rising CEA levels have also been used to assist in selecting candidates for second-look surgery, in conjunction with antibody imaging using radiolabeled antibodies against CEA to provide information on tumor location.[3] Several studies have suggested a correlation between the rate of rise in CEA and the presence or probability of hepatic metastases: more rapid rises are seen with hepatic metastases than with

localized recurrences and resectable localized tumors. In some cases, it has been CEA that signaled the asymptomatic recurrences.[4]

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 CEA 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 CEA 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: 15 µL serum

Storage: 7 days at 2–8°C or for longer periods at –20°C.

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.



CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD
Contains human source material. Each donation of human blood or blood component was tested by FDA-approved methods for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) as well as for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis C virus (HCV). The test results were negative (not repeatedly reactive). No test offers complete assurance that these or other infectious agents are absent; this material should be handled using good laboratory practices and universal precautions.[15-17]

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.



H318, P280, P264, P305 + P351 + P310

Danger! Causes serious eye damage.
Wear protective gloves/ protective clothing/eye protection/face protection. Wash hands thoroughly after handling. IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Immediately call a POISON CENTER or doctor/physician. **Contains:** tetrasodium ethylene diamine tetraacetate; CEA Reagent Wedge A

H412 P273, P501

Harmful to aquatic life with long lasting effects.
Avoid release to the environment. Dispose of contents and container in accordance with all local, regional, and national regulations. **Contains:** sodium azide; CEA Adjustors

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. The barcode labels are needed for the assay.

CEA Bead Pack (L2CE12)
With barcode. 200 beads, coated with monoclonal murine anti-CEA antibody. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KCE2: 1 pack **L2KCE6:** 3 packs

CEA Reagent Wedge (L2CEA2)
With barcode. 11.5 mL buffer/murine serum matrix, with preservative; 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to polyclonal rabbit anti-CEA antibody in buffer, with preservative. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KCE2: 1 wedge **L2KCE6:** 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.

CEA Adjustors (LCEL, LCEH)
Two vials (Low and High) of lyophilized CEA in a CEA-free human serum, with preservative. Reconstitute each vial with **3.0 mL** distilled or deionized water. Let stand for 30 minutes. Mix by gentle swirling or inversion until the lyophilized material is fully dissolved. Stable at 2–8°C for 7 days after reconstitution, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KCE2: 1 set **L2KCE6:** 2 sets

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

Kit Components Supplied Separately

Multi-Diluent 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
For the on-board dilution of patient samples. One vial, concentrated (ready-to-use), nonhuman protein/buffer matrix, with preservative. Storage: 30 days (after opening) at 2–8°C or 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2M2Z: 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

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

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate
L2PWSM: Probe Wash
L2KPM: Probe Cleaning Kit
LRXT: Reaction Tubes (disposable)
L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

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 Systems Operator's Manual.

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

Recommended Adjustment Interval:
2 weeks

Quality Control Samples: Follow government regulations or accreditation requirements for quality control frequency.

Use controls or sample pools with at least two levels (low and high) of CEA.

Siemens Healthcare Diagnostics recommends the use of commercially available quality control materials with at least 2 levels (low and high). A satisfactory level of performance is achieved when the analyte values obtained are within the Acceptable Control Range for the system, or within an established range determined by an appropriate internal laboratory quality control scheme.

Expected Values

Based on its relationship to IMMULITE CEA (see Method Comparison), the IMMULITE 2000 CEA procedure can be expected to have essentially the same reference ranges.

A reference range study for IMMULITE CEA was performed using serum samples from adult volunteers, including both men and nonpregnant women ranging from approximately 20 to 70 years of age (central 95%: 22–64 years, median: 40 years). The subjects were in apparent good health, based on a questionnaire.

Blood samples were collected in France, Germany, the Netherlands and Portugal. Results were generated by an independent laboratory in the Netherlands using IMMULITE kits. (The samples were collected in plain glass tubes without anticoagulants, gel barriers, or clot-promoting additives, and assayed in singlicate.)

Medians and 95th percentiles for relevant subgroups are tabulated below. Percentiles were determined nonparametrically.

Group	Median	95%ile	Units	*n*
Male Smokers	2.1	6.2	ng/mL	153
Male Nonsmokers	1.1	3.4	ng/mL	226
Female Smokers	1.3	4.9	ng/mL	81
Female Nonsmokers	0.8	2.5	ng/mL	262

Results from another study with the IMMULITE CEA assay are shown in the two tables below. The study was conducted at three sites in the United States. Included are individual results from 153 subjects in apparent good health (both smokers and nonsmokers); individual results from 243 patients with various nonmalignant diseases; and a total of 1382 samples (some collected during serial monitoring) from 657 patients with various types of cancer.

Patient Category	*n*	Median	95 %ile
Normal subjects			
Nonsmokers	86	1.2	4.1
Smokers	67	2.1	9.8
Nonmalignant Diseases			
Pulmonary Diseases	32	2.8	11.2
Renal Diseases	19	1.5	6.3
Hepatitis	47	1.9	8.5
Thyroid Diseases	65	1.1	4.9
Other Nonmalignant Diseases	80	1.9	13.6
Malignant Diseases			
Bladder Cancer	27	1.5	83.1
Breast Cancer	46	4.1	2230
Colorectal Cancer	944	5.1	849
Esophageal Cancer	44	4.5	323
Lung Cancer	52	4.8	355
Ovarian Cancer	50	1.3	24.6
Renal Cancer	39	1	3.5
Pancreatic Cancer	19	19.4	495
Stomach Cancer	25	56.5	277
Prostate Cancer	29	1.2	13.2
Rectal Cancer	21	1.4	23.8
Other Cancers	86	2	233

Patient Category	*n*	Percent of Samples in Range (ng/mL)			
Group		**0–3.0**	**3.1–5.0**	**5.1–10**	**>10**
Normal Subjects					
Nonsmokers	86	90.7%	7.0%	2.3%	0.0%
Smokers	67	71.6%	14.9%	9.0%	4.5%
Nonmalignant Diseases					
Pulmonary Diseases	32	62.5%	12.5%	18.8%	6.3%
Renal Diseases	19	73.7%	15.8%	10.5%	0.0%
Hepatitis	47	74.5%	10.6%	12.8%	2.1%
Thyroid Diseases	65	92.3%	3.1%	4.6%	0.0%
Other Nonmalignant Diseases	80	70.0%	12.5%	10.0%	7.5%
Malignant Diseases					
Bladder Cancer	27	70.4%	18.5%	3.7%	7.4%
Breast Cancer	46	43.5%	13.0%	10.9%	32.6%
Colorectal Cancer	944	36.1%	13.1%	15.8%	35.0%
Esophageal Cancer	44	34.1%	22.7%	9.1%	34.1%
Lung Cancer	52	38.5%	13.5%	7.7%	40.4%
Ovarian Cancer	50	86.0%	2.0%	6.0%	6.0%
Renal Cancer	39	89.7%	7.7%	0.0%	2.6%
Pancreatic Cancer	19	31.6%	5.3%	0.0%	63.2%
Stomach Cancer	25	36.0%	0.0%	8.0%	56.0%
Prostate Cancer	29	69.0%	24.1%	3.4%	3.4%
Rectal Cancer	21	71.4%	14.3%	0.0%	14.3%
Other Cancers	86	58.1%	12.8%	8.1%	20.9%

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

Limitations

Patients with confirmed carcinoma often have pretreatment CEA levels in the same range as healthy persons. Elevated CEA levels are frequently observed in smokers, in cancer patients and in patients with a variety of nonmalignant diseases and inflammatory conditions. Therefore, a serum CEA level, regardless of its value, should not be interpreted as absolute evidence for the presence or absence of malignant disease. The CEA value should be used in conjunction with information available from clinical evaluation and other diagnostic procedures. The IMMULITE 2000 CEA assay should not be used as a cancer screening test.

Some individuals have antibodies to mouse protein which can cause interference in immunoassays that employ antibodies derived from mice. In particular, specimens from patients who have received preparations of mouse monoclonal antibodies for diagnosis or therapy may contain human anti-mouse antibodies (HAMA). These specimens may show erroneous results in such assays.[12-14] Therefore, results should be interpreted with caution for such patients.

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* 1998:34: 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.)

Calibration Range: Up to 550 ng/mL

The assay is traceable to an internal standard manufactured using qualified materials and measurement procedures.

Analytical Sensitivity: 0.15 ng/mL

High-dose Hook Effect:
None up to 250,000 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 for representative data.)

Recovery: Samples spiked 1 to 19 with three CEA solutions (2520, 4160 and 5580 ng/mL) were assayed. (See “Recovery” table for representative data.)

Specificity: The antibodies used in the IMMULITE 2000 CEA procedure are highly specific for CEA. (See “Specificity” table.)

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

Biotin:

Biotin Test Level (ng/mL)	CEA Concentration (ng/mL)	
	3.6	210
	Bias (%)	
2.0	2	3
5.0	12	0
9.0	7	4
19.0	17	0
32.0	19	16
100	23	22
1500	25	23

Specimens that contain biotin at a concentration of 2 ng/mL demonstrate a less than or equal to 10% change in results. Biotin concentrations greater than this may lead to falsely elevated results for patient samples.

The recommended adult daily dietary intake for biotin is 30 µg/day. Over the counter dietary supplements promoted for use in hair, skin and nail health may contain 5–100 mg of biotin, with recommendations to take multiple pills per day. Pharmacokinetic studies in healthy adults have shown that, in subjects ingesting 5 mg, 10 mg, and 20 mg of biotin, serum concentrations of biotin can reach up to 73 ng/mL, 141 ng/mL, and 355 ng/mL, respectively.[18] Subjects who take up to 300 mg of biotin per day may have plasma biotin levels as high as 1160 ng/mL.[19]

Hemolysis: Presence of hemoglobin in concentrations up to 381 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 3000 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 10 volunteers into plain, heparinized, EDTA and Becton Dickinson SST® vacutainer tubes. Equal volumes of the matched samples were spiked with various concentrations of carcinoembryonic antigen, to obtain values throughout the calibration range of the assay, and then assayed by the IMMULITE 2000 CEA procedure.

(Heparin) = 0.96 (Serum) – 0.45 ng/mL
r = 0.992

(EDTA) = 1.0 (Serum) – 0.91 ng/mL
r = 0.995

(SST) = 0.99 (Plain Tubes) + 0.97 ng/mL
r = 0.990

Means:
40.9 ng/mL (Serum)
38.9 ng/mL (Heparin)
40.0 ng/mL (EDTA)
41.4 ng/mL (SST)

Method Comparison: The assay was compared to IMMULITE CEA assay on 48 samples. (Concentration range: approximately 2.1 to 550 ng/mL. See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 1.06 (IML) + 5.0 ng/mL
r = 0.989

Means:
204 ng/mL (IMMULITE 2000)
187 ng/mL (IMMULITE)

References

1) Beard DB, Haskell CM. Carcinoembryonic antigen in breast cancer. Am J Med 1986 Feb;80:241-5. 2) Begent R. The value of carcinoembryonic antigen measurement in clinical practice. Ann Clin Biochem 1984;21: 231-8. 3) Begent R, Rustin GJS. Tumour markers: from carcinoembryonic antigen to products of hybridoma technology. Cancer Surv 1989;8(1):107-21. 4) Cooper EH, de Mello Jr. JP, Giles GR. Biochemical markers in gastrointestinal malignancies. Arq Gastroenterol 1989;26(4):131-40. 5) Fantini GA, DeCosse JJ.

Surveillance strategies after resection of carcinoma of the colon and rectum. Surg Gynecol Obstet 1990;171:267-73. 6) Jessup JM, Thomas P. Carcinoembryonic antigen: function in metastasis by human colorectal carcinoma. Cancer Metastasis Rev 1989;8:263-80. 7) Nisselbaum JS, Smith CA, Schwartz D, Schwartz MK. Comparison of Roche RIA, Roche EIA, Hybritech EIA, and Abbott EIA methods for measuring carcinoembryonic antigen. Clin Chem 1988;34(4):761-4. 8) Sardi A, Agnone CM, Nieroda CA, Mojzisik C, Hinkle G, Ferrara P, et al. Radioimmunoguided surgery in recurrent colorectal cancer: the role of carcinoembryonic antigen, computerized tomography, and physical examination. South Med J 1989;82:1235-9. 9) Sener SF, Imperato JP, Chmiel J, Fremgen A, Sylvester J. The use of cancer registry data to study preoperative carcinoembryonic antigen level as an indicator of survival in colorectal cancer. CA 1989;39(1):50-7. 10) Shinkai T, Saijo N, Tominaga K, Eguchi K, Shimizu E, Sasaki Y, et al. Serial plasma carcinoembryonic antigen measurement for monitoring patients with advanced lung cancer during chemotherapy. Cancer 1986;57:1318-23. 11) National Committee for Clinical Laboratory Standards, Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture, 3rd ed, NCCLS Document H3-A3, 1991. 12) Primus FJ et al. "Sandwich"-type immunoassay of carcinoembryonic antigen in patients receiving murine antibody for diagnosis and therapy. Clin Chem 1988;34:261-4. 13) Hansen HJ et al. Solving the problem of antibody interference in commercial "sandwich"-type immunoassay of carcinoembryonic antigen. Clin Chem 1989;35:146-51. 14) Schroff RJ et al. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. Cancer Res 1985;45:879-85. 15) Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. MMWR, 1988;37:377–82, 387–8. 16) Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3. 17) Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030. 18) Grimsey P, et al. 2017. Population pharmacokinetics of exogenous biotin and the relationship between biotin serum levels and in vitro immunoassay interference. Int. J. Pharmacokinet. 2(4), 247-256. 19) Piketty ML, et al. 2017. High-dose biotin therapy leading to false biochemical endocrine profiles: validation of a simple method to overcome biotin interference. Clin Chem Lab Med. 55(6):817-825.

Technical Assistance

In the United States, contact Siemens Healthcare Diagnostics Technical Services department. Tel: 877.229.3711. Outside the United States, contact your National Distributor.

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

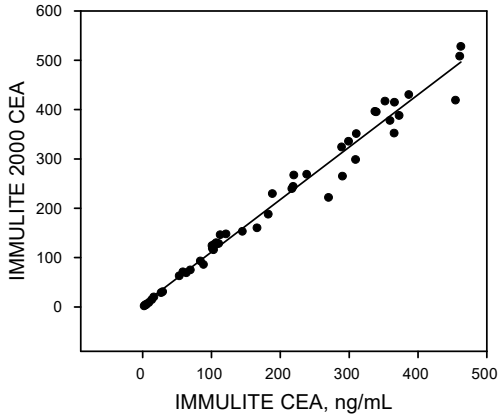
Precision (ng/mL)

		Within-Run[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	6.0	0.18	3.0%	0.58	9.8%
2	15.8	0.58	3.7%	1.2	7.6%
3	54	1.48	2.7%	2.45	4.5%

Linearity (ng/mL)

	Dilution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	16 in 16[5]	12	—	—
	8 in 16	5.8	6.0	97%
	4 in 16	2.8	3.0	93%
	2 in 16	1.4	1.5	93%
	1 in 16	0.7	0.8	88%
2	16 in 16	26	—	—
	8 in 16	13	13	100%
	4 in 16	6.3	6.5	97%
	2 in 16	3.1	3.3	94%
	1 in 16	1.5	1.6	94%
3	16 in 16	44	—	—
	8 in 16	22	22	100%
	4 in 16	11	11	100%
	2 in 16	5.2	5.5	95%
	1 in 16	2.4	2.8	85%
4	16 in 16	145	—	—
	8 in 16	75	73	103%
	4 in 16	38	36	106%
	2 in 16	19	18	106%
	1 in 16	9.4	9.1	103%
5	16 in 16	243	—	—
	8 in 16	130	122	107%
	4 in 16	62	61	102%
	2 in 16	30	30	100%
	1 in 16	14	15	93%

Method Comparison



(IML 2000) = 1.06 (IML) + 5.0 ng/mL
r = 0.989

Recovery (ng/mL)

	Solution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	—	23	—	—
	A	141	148	95%
	B	220	230	96%
	C	283	301	94%
2	—	73	—	—
	A	189	195	97%
	B	274	277	99%
	C	333	348	96%
3	—	85	—	—
	A	200	207	97%
	B	276	289	96%
	C	328	360	91%
4	—	117	—	—
	A	238	237	101%
	B	329	319	103%
	C	388	390	99%

Specificity

Compound[1]	ng/mL Added[2]	% Cross reactivity[3]
Chondroitin sulfate	270,000	ND
Dextran sulfate	50,000	ND
Hyaluronic acid	500,000	ND
Heparin sodium	6,000,000	ND
AFP	10,000	ND
Ferritin	10,000	ND
HCG	10,000	ND
PAP	1000	ND
PSA	1000	ND
Prolactin	500	ND

ND: not detectable[4]

Deutsch. **Precision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]SD, [5]CV (Variationskoeffizient). **Linearity**: [1]Verdünnung, [2]Beobachtet (B), [3]Erwartet (E), [4]% B/E, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Lösung, [2]Beobachtet (B), [3]Erwartet (E), [4]% B/E. **Specificity**: [1]Verbindung, [2]zugesetzte Menge, [3]% Kreuzreaktivität, [4]NN: Nicht nachweisbar. **Method Comparison**: CEA

Español. **Precision:** [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, , [4]DS, [5]CV. **Linearity**: [1]Dilución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 en 8. **Recovery**: [1]Solución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E.

Specificity: [1]Compuesto, [2]Cantidad añadida, [3]% Reacción cruzada, [4]ND: no detectable. **Method Comparison**: CEA

Français. **Precision**: [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]DS, [5]CV. **Linearity**: [1]Dilution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A, [5]8 dans 8. **Recovery**: [1]Solution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A. **Specificity**: [1]Composé, [2]ajouté, [3]Réaction croisée %. [4]ND: non détectable. **Method Comparison**: ACE

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD, [5]CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity**: [1]Diluizione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Soluzione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A. **Specificity**: [1]Composto, [2]quantità aggiunta, [3]Percentuale di Crossreattività, [4]ND: non determinabile. **Method Comparison**: CEA

Português. **Precision**: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, , [4]SD, [5]Coeficiente de variação. **Linearity**: [1]Diluição, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 em 8. **Recovery**: [1]Solução, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Specificity**: [1]Composto, [2]Quantidade adicionada, [3]Percentagem de reacção cruzada, [4]ND: não detectável. **Method Comparison**: ACE

Deutsch

CEA - IMMULITE® 2000

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme — zur quantitativen Messung von CEA im Serum, als Hilfestellung in der Behandlung von Krebspatienten und zur Abschätzung der Prognose.

Artikelnummern: **L2KCE2** (200 tests), **L2KCE6** (600 tests)

Testcode: **CEA** Farbe: **hellgrün**

Klinische Relevanz

Das carcinoembryonale Antigen (CEA) gehört zur Gruppe der tumorassoziierten Antigene und fasst eine heterogene Familie von Glycoproteinen mit Molekulargewichten von 175 000 bis 200 000 Dalton zusammen, die sich im Kohlenhydratgehalt und ihrer Aminosäuresequenz unterscheiden. Über seine biologische Funktion ist noch wenig bekannt, jedoch wird angenommen, dass es eine Rolle bei der interzelluären Erkennung, der Regulation der Immunantwort und Metastasierung kolorektaler Tumore spielt.[6] Seine Bezeichnung geht auf die frühere Annahme zurück, dass CEA ausschließlich in gastrointestinalen Tumoren und im fetalen Verdauungstrakt gefunden wird. Erhöhte Konzentrationen wurden seither jedoch in einer ganzen Reihe gutartiger und maligner Erkrankungen des Gastrointestinal-Traktes und anderer Organe gefunden. Dazu zählen verschiedene Erkrankungen der Leber, entzündliche Prozesse des Gastrointestinal-Traktes, Infektionen, schweren Verletzungen, Infarkten, vaskuläre Bindegewebserkrankungen, Nierenversagen, und Rauchen (sowohl akut als auch ehemals).[2] Daneben findet sich CEA in niedriger Konzentration im normalen Darm und anderen Geweben. Auf Basis der Serumkonzentration gesunder Erwachsener von unter 5 ng/ml[7] sind Werte, die diesen Normalwert um das 5-fache übersteigen als Hinweis auf eine maligne Erkrankung zu werten. Da die bei gut- und bösartigen Erkrankungen gefundenen Serumkonzentrationen jedoch überlappen können, eignet sich CEA nicht als allgemeiner Screening-Parameter für maligne Entartungen. Der Wertigkeit der CEA-Bestimmung liegt vielmehr in der Prognosestellung, Statusbestimmung und Verlaufskontrolle.

Bis 1980 wurde CEA in den USA ausschließlich mit einem Radioimmunoassay nach Extraktion bestimmt. Seitdem wurden zahlreiche neue Testsysteme — RIA's, und immunometrische Verfahren (IRMA's und EIA's) — zur direkten Bestimmungen des CEA ohne Extraktion aus Serum- oder Plasmaproben entwickelt.

Die CEA-Spiegel zum Zeitpunkt des Nachweises eines kolorektalen Karzinomes (CRC) korrelieren mit der Prognose des Patienten.[5] Erhöhte präoperative CEA-Serumkonzentrationen spiegeln ein erhöhtes Risiko des Patienten für Ein Rezidiv oder Lebermetastasen wider. Die Interpretation eines erhöhten CEA-Wertes kann durch die Lage des Primärtumors beeinflusst sein: so sind hohe CEA-Konzentrationen beim Kolonkarzinom im allgemeinen mit einer schlechten Prognose assoziiert, während dies nicht zwingend auch für Rektumkarzinome gilt.[9] Daneben kann der Verlauf der CEA-Konzentration zur

Überwachung einer Chemotherapie vor der Operation wichtige Informationen liefern. Ein ausbleibender Abfall des CEA im Verlauf der Bestrahlung deutet auf zusätzliches Tumorgewebe außerhalb des bestrahlten Bereichs hin und geht zumeist mit einer schlechteren Prognose einher.[3] Daneben wurde für CRC-Patienten bei präoperativ erhöhtem CEA eine inverse Korrelation zur Dauer eines rezidivfreien Intervalls,[4] sowie eine direkte Korrelation mit dem Tumorstadium; der Tumormasse sowie seinem Differenzierungsgrad beschrieben.[3,4,9] CEA ist nicht immer erhöht, unter anderem bei wenig differenziertem, aber mehr aggressivem CRC, das oft geringere CEA Mengen bildet als schwach oder hochdifferenzierte Karzinome.[3,6] Ansteigende CEA-Serumkonzentrationen gelten bei kolorektalen Karzinom als verlässlichster Indikator für ein Tumorrezidiv.[5,8] Nach kompletter operativer Entfernung des Tumors kehrt die CEA Serumkonzentration bei fast allen Patienten innerhalb von 4 bis 6 Wochen in den Referenzbereich zurück.[3] Das Ausbleiben des CEA-Abfalls ist als Hinweis auf Tumorreste zu werten.[5] Ansteigende CEA Konzentrationen können bei etwa zwei Drittel der Patienten 4 bis 6 Monate vor der klinischen Manifestation eines CRC-Rezidives gefunden werden.[3,5,8] Ansteigende CEA-Spiegel wurden auch zur Auswahl von Patienten eingesetzt, bei denen eine sog. Second-Look Operation geplant wurde. Zur Tumorlokalisation wurden dabei bildgebende Verfahren in Verbindung mit radioaktiv markierten CEA-Antikörpern eingesetzt.[3] Im Rahmen zahlreicher Studien wurde der Zusammenhang zwischem einem Anstieg des CEA und dem Vorliegen oder Verdacht auf Lebermetastasen untersucht: in Patienten mit Metastasen in der Leber konnte hierbei ein viel rapider Anstieg des CEA beobachtet werden, als bei solchen mit Lokalrezidiven oder operablen lokalen Tumoren. In einigen Fällen zeigte CEA dabei ein asymptomatisches Rezidiv an.[4]

Methodik

Der IMMULITE 2000 CEA ist ein Festphasen-, sequenzieller Zweischritt-, Chemilumineszenz-, Immunometrischer Assay.

Inkubation: 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 Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter Antikoagulantientherapie können eine verlängerte Gerinnungszeit aufweisen.

Blutentnahmeröhrchen von verschiedenen Herstellern können differierende Werte verursachen. Dies hängt von den verwendeten Materialien und Additiven (Gel oder physische Trennbarrieren, Gerinnungsaktivatoren und /oder Antikoagulantien) ab. IMMULITE 2000 CEA sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel „Alternative Probenarten“ zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 15 µl Serum

Lagerung: 7 Tage bei 2–8°C. Für eine längere Aufbewahrung bei –20°C tieffrieren.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Nur zur *in vitro*-Diagnostik verwenden.



VORSICHT! BIOLOGISCHES RISIKOMATERIAL
Enthält Material humanen Ursprungs. Alle Blutspenden oder Blutkomponenten menschlicher Herkunft wurden nach FDA-genehmigten Methoden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die HI-Viren Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2) sowie von Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und Antikörpern gegen den Hepatitis C-Virus (HCV) getestet. Die Testergebnisse waren negativ (nicht wiederholt reaktiv). Durch keinen Test kann das Vorhandensein dieser oder anderer infektiöser Stoffe vollständig ausgeschlossen werden. Dieses Material ist mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und gemäß der allgemein anerkannten guten Laborpraxis zu handhaben.[15-17]

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.



H318, P280, P264, P305 + P351 + P310

Gefahr! Verursacht schwere Augenschäden. Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen. Nach Gebrauch Hände gründlich waschen. BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Sofort GIFT-INFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. **Enthält:** Tetranatriumethylendiamintetraacetat; CEA-"A"-Reagenzbehälter.

H412 P273, P501

Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Inhalt und Behälter sind in Übereinstimmung mit den gesetzlichen Bestimmungen zu entsorgen. **Enthält:** Natriumazid; CEA-Kalibratoren

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.

CEA Kugel-Container (L2CE12)
barcodiert, Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit monoklonalen anti-CEA Antikörpern (Maus). Gekühlt (2–8°C) haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum.
L2KCE2: 1 Container
L2KCE6: 3 Container

CEA- Reagenzbehälter (L2CEA2)
barcodiert, Reagenz-Container enthält 11,5 ml nicht humane Serum/Puffer-Matrix sowie 11,5 ml alkalische Phophatase (Kalb), mit Konservierungsmittel. Konjugiert mit polyklonalem anti-CEA Antikörper (Kaninchen) in Pufferlösung, mit Konservierungsmittel. Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.
L2KCE2: 1 Container
L2KCE6: 3 Container

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.

CEA-Kalibratoren (LCEL, LCEH)
Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) mit CEA lyophilisiertem, CEA freiem humanem Serum, mit Konservierungsmittel. Mit jeweils **3,0 ml** dest. Wasser rekonstituieren. 30 Minuten stehen lassen, anschließend vorsichtig mischen. Nach Rekonstituierung 7 Tage bei 2–8°C, sonst 6 Monate (aliquotiert) bei –20°C haltbar.
L2KCE2: 1 Set **L2KCE6:** 2 Sets

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

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

Multidiluent 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Zur on-board Verdünnung von Patientproben. Enthält nichthumane Protein/ Puffer-Matrix (mit Konservierungsmittel), versetzt. Lagerung: 30 Tage (nach Öffnen) bei 2–8°C oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2M2Z: 25 ml **L2M2Z4:** 55 ml

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2M2Z: 3 Etiketten **L2M2Z4:** 5 Etiketten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: Einmal-Reaktionsgefäße
Zusätzlich erhältlich
L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm) für die Probenverdünnung
L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Röhrchen; Kontrollen

Testdurchführung

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

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

Kalibrationsintervall: 2 Wochen

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

Kontrollen oder Seren mit CEA in zumindest zwei Konzentrationen (niedrige und hohe) verwenden.

Siemens Healthcare Diagnostics empfiehlt die Verwendung von kommerziell verfügbaren Qualitätskontrollen in mindestens 2 Konzentrationen (niedrig und hoch). Der Systembetrieb gilt dann als zufriedenstellend, wenn die Analytwerte innerhalb des für das System zulässigen Kontrollbereichs oder des für die laborinternen Qualitätskontrollverfahren festgelegten zulässigen Bereichs liegen.

Referenzwerte

Basierend auf der Korrelation zum IMMULITE CEA (siehe „Methodenvergleich“) kann von den nachfolgenden Referenzbereichen für den Assay ausgegangen werden.

Mit dem IMMULITE CEA wurde eine Referenzwertstudie mit 722 gesunden, erwachsenen Männern und nicht-schwangeren Frauen, im Alter von etwa 20 bis 70 Jahren (95 % Vertrauens-bereich: 22–64 Jahre, Median 40 Jahre) durchgeführt. Basierend auf eigenen Angaben in einem Fragebogen, befanden sich die Probanden in einem guten Gesundheitszustand.

Die Blutproben wurden in Frankreich, Deutschland, den Niederlanden und Portugal gesammelt und zentral in einem unabhängigen holländischen Labor mit dem IMMULITE CEA bestimmt.
(Die Probenentnahme erfolgte in unbeschichteten Röhrchen ohne Antikoagulantien, Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze; die Tests wurden in Einzelbestimmungen durchgeführt.)

Mediane und 95 %-Percentile der relevanten Untergruppen sind in der untenstehenden Tabelle zusammengefasst. Die Bereiche wurden nichtparametrisch bestimmt.

Gruppe	Median	95%-Perzentile	Einheit	*n*
Männl. Raucher	2,1	6,2	ng/ml	153
Männl. Nichtraucher	1,1	3,4	ng/ml	226
Weibl. Raucher	1,3	4,9	ng/ml	81
Weibl. Nichtraucher	0,8	2,5	ng/ml	262

Die Ergebnisse einer weiteren Studie mit dem Immulite CEA sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst. Die Studie wurde an drei Zentren in den USA durchgeführt und enthielt 153 gesunde Erwachsene (Rauchern und Nicht-Rauchern), individuelle Ergebnisse von 243 Patienten mit unterschiedlichen gutartigen Erkrankungen und insgesamt 1382 Proben (zum Teil in der Verlaufskontrolle) von 657 Patienten mit unterschiedlichen Tumoren.

Patientenkollektiv	*n*	Median	95%-Perzentile
Gesunde			
Nichtraucher	86	1,2	4,1
Raucher	67	2,1	9,8
Nichtmaligne Erkrankungen			
Lungenkrankheiten	32	2,8	11,2
Nierenkrankheiten	19	1,5	6,3
Hepatitis	47	1,9	8,5
Schilddrüsenkrankheiten	65	1,1	4,9
Andere nichtmaligne Krankheiten	80	1,9	13,6
Maligne Erkrankungen			
Blasen-Ca	27	1,5	83,1
Mamma-Ca	46	4,1	2230
Kolorektal-Ca	944	5,1	849
Ösophagus-Ca	44	4,5	323
Lungen-Ca	52	4,8	355
Ovarial-Ca	50	1,3	24,6
Nieren-Ca	39	1	3,5
Pankreas-Ca	19	19,4	495
Magen-Ca	25	56,5	277
Prostata-Ca	29	1,2	13,2
Anal-Ca	21	1,4	23,8
Andere Krebsarten	86	2	233

Referenzwerte: Fortsetzung

Patientenkollektiv	*n*	Prozentuale Verteilung der Proben nach Wertebereichen (ng/ml)			
Gruppe		**0-3,0**	**3,1-5,0**	**5,1-10**	**>10**
Gesunde					
Nichtraucher	86	90,7%	7,0%	2,3%	0,0%
Raucher	67	71,6%	14,9%	9,0%	4,5%
Nichtmaligne Erkrankungen					
Lungen–krankheiten	32	62,5%	12,5%	18,8%	6,3%
Nieren–krankheiten	19	73,7%	15,8%	10,5%	0,0%
Hepatitis	47	74,5%	10,6%	12,8%	2,1%
Schilddrüsen-krankheiten	65	92,3%	3,1%	4,6%	0,0%
Andere nichtmaligne Krankheiten	80	70,0%	12,5%	10,0%	7,5%
Maligne Erkrankungen					
Blasen-Ca	27	70,4%	18,5%	3,7%	7,4%
Mamma-Ca	46	43,5%	13,0%	10,9%	32,6%
Kolorektal-Ca	944	36,1%	13,1%	15,8%	35,0%
Ösophagus-Ca	44	34,1%	22,7%	9,1%	34,1%
Lungen-Ca	52	38,5%	13,5%	7,7%	40,4%
Ovarial-Ca	50	86,0%	2,0%	6,0%	6,0%
Nieren-Ca	39	89,7%	7,7%	0,0%	2,6%
Pankreas-Ca	19	31,6%	5,3%	0,0%	63,2%
Magen-Ca	25	36,0%	0,0%	8,0%	56,0%
Prostata-Ca	29	69,0%	24,1%	3,4%	3,4%
Anal-Ca	21	71,4%	14,3%	0,0%	14,3%
Andere Krebsarten	86	58,1%	12,8%	8,1%	20,9%

Bitte betrachten Sie diese Grenzwerte nur als *Richtwerte*. Jedes Labor sollte eigene Referenzbereiche ermitteln.

Grenzen der Methode

Oftmals zeigen Patienten mit bestätigten Karzinomen vor der Behandlung CEA-Werte innerhalb des Referenzbereiches gesunder Probanden, während sich bei Rauchern und Patienten mit gutartigen Erkrankungen sowie Entzündungen regelmäßig erhöhte CEA-Spiegel im Serum finden. Daher sollte das Ergebnis der CEA-Bestimmung unabhängig vom gemessenen Konzentration nicht als absoluten Hinweis auf das Vorliegen oder Fehlen einer malignen Erkrankung interpretiert werden. Der CEA-Wert sollte stets unter

Berücksichtigung aller verfügbaren klinischen Informationen und Labordaten verwendet werden. Der Immulite 2000 CEA Test sollte nicht zum Screening auf Krebserkrankungen eingesetzt werden.

Einige Patienten können Antikörper gegen Mäuseproteine tragen, die zu Interferenzen in Immunoassays auf der Basis monoklonaler Antikörper von der Maus führen können. Dies gilt besonders für Patienten, denen im Rahmen der Diagnose oder Therapie monoklonale Maus-Antikörper verabreicht wurden und dadurch sogenannte HAMA's (Humane Anti-Maus-Antikörper) entwickelt haben. Diese Proben können in solchen Assays verfälscchte Ergebnisse zeigen.[12-14] Daher sollten die Resultate dieser Patienten nur mit Vorsicht interpretiert werden.

Heterophile Antikörper in Humanseren können mit Immunglobulinen aus den Assaykomponenten reagieren und Interferenzerscheinungen innerhalb des *in vitro* Immunoassays verursachen. (*Clin Chem* 1998:34:27-33) 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.)

Meßbereich: Bis 550 ng/ml

Die Methode ist rückführbar auf einen internen Standard, der mittels qualifizierter Materialien und Messmethoden hergestellt wurde.

Analytische Sensitivität: 0,15 ng/ml

High-Dose-Hook-Effekt:
Keiner bis zu 250 000 ng/ml

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Test-ansätzen 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 „Linearität“.)

Wiederfindung: Proben wurden mit drei Lösungen (2520, 4160 und 5580 ng/ml) im Verhältnis von 1:19 versetzt. (Siehe Tabelle „Recovery” für representative Daten.)

Spezifität: Hochspezifischer Anti-CEA-Antikörper. (Siehe Tabelle „Spezifität“.)

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

Biotin:

Biotin-Teststufe (ng/ml)	CEA-Konzentration (ng/ml)	
	3,6	210
	% Abweichung	
2,0	2	3
5,0	12	0
9,0	7	4
19,0	17	0
32,0	19	16
100	23	22
1500	25	23

Proben, die Biotin in einer Konzentration von 2 ng/ml enthalten, zeigen eine Veränderung der Ergebnisse von kleiner oder gleich 10 %. Höhere Biotinkonzentrationen können zu falsch erhöhten Ergebnissen für Patientenproben führen.

Der empfohlene Referenzwert für die Aufnahme von Biotin für Erwachsene beträgt 30 µg/Tag. Rezeptfreie Nahrungsergänzungsmittel, die für gesunde Haare, Haut und Nägel vermarktet werden, können 5–100 mg Biotin enthalten, wobei eine Einnahmeempfehlung von mehreren Tabletten pro Tag besteht.

Pharmakokinetische Studien mit gesunden Erwachsenen haben gezeigt, dass die Einnahme von 5 mg, 10 mg und 20 mg zu Biotin-Serumkonzentrationen von bis zu 73 ng/ml, 141 ng/ml und 355 ng/ml führen kann.[18] Studienteilnehmer, die bis zu 300 mg Biotin pro Tag einnehmen, können einen Biotin-Plasmaspiegel von 1160 ng/ml erreichen.[19]

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 381 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride haben in Konzentrationen bis zu 3000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Alternativer Probentyp: Um die Auswirkungen von verschiedenen Probenarten zu untersuchen, wurde Blut von 10 Freiwilligen in Röhrchen ohne Additiva, in Heparin-, EDTA- und Becton Dickinson SST Vacutainer-Rörchen gesammelt. Gleiche Volumina der jeweiligen Proben wurden mit verschiedenen Konzentrationen an carcinoembryonale Antigen versetzt, um Werte im gesamten Kalibrationsbereich zu erhalten, und die Proben anschließend mit dem IMMULITE 2000 Assay für CEA gemessen.

(Heparin) = 0,96 (Serum) – 0,45 ng/ml
r = 0,992

(EDTA) = 1,0 (Serum) – 0,91 ng/ml
r = 0,995

(SST) = 0,99 (einfachen Röhrchen) + 0,97 ng/ml
r = 0,990

Mittelwerte:
40,9 ng/ml (Serum)
38,9 ng/ml (Heparin)
40,0 ng/ml (EDTA)
41,4 ng/ml (SST)

Methodenvergleich: Der Assay wurde unter Verwendung von 48 Patientenproben mit IMMULITE CEA verglichen. (Konzentrationsbereich ca. 2,1–550 ng/ml. Siehe Grafik.)
Lineare Regression:

(IML 2000) = 1,06 (IML) +5,0 ng/ml
r = 0,989

Mittelwert:
204 ng/ml (IMMULITE 2000)
187 ng/ml (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

CEA

Utilidad del análisis: Para dignóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE 2000 — para la dosificación cuantitativa de antigeno carcinoembrionario (CEA) en suero, como ayduda en el seguimiento de pacientes y valoración del pronóstico.

Referencia: **L2KCE2** (200 tests), **L2KCE6** (600 tests)

Código del Test: **CEA**
Código de Color: **Verde Claro**

Resumen y explciación del Test

El antigeno carcinoembrionario (CEA) comprende una familia heterogénea de glicoproteínas con un rango de pesos moleculares desde 175 000 a 200 000 daltons debido a la variación en el contenido de carbohidratos y aminoácidos. Su función biológica no está bien definida, pero parece jugar un papel en los procesos de reconocimiento celular, respuesta inmune y metástasis de cáncer colorectal[6]. Su nombre se deriva de la creencia sobre la producción exlusiva de CEA en el carcinoma gastrointestinal y tracto digestivo fetal. Desde entonces, se han detectado un número de condiciones malignas y no malignas en tracto gastrointestinal y otras localizaciones. Estas condiciones incluyen; enfarmedades hepáticas; lesiones inflamatorias, particularmente del tracto gastrointestinal; infecciones; trauma; infarto; enfermedad vascular del colágeno, fallo renal, y población fumadora (tanto en el momento actual como en el pasado)[2]. El CEA también se produce en el colón normal y otros tejidos en bajos niveles. Los valores en suero de adultos sanos son generalmente menor

5 ng/ml[7]. Aunque los valores de suero que excedan cinco veces el rango de normalidad indican normalmente una patología maligna, los valores observados en condiciones malignas y no malignas pueden solaparse considerablemente, excluyendo la posibilidad de uso del CEA como marcador de screening. Sin embargo la dosificación del CEA es útil en el pronóstico del paciente, la valoración del status y la monitorización.

Hasta 1980, el uníco método de ensayo utilizado en Estados Unidos era un radioinmunoensayo que requería una extracción. Desde entonces, otro ensayos de RIA y ensayos sandwich de EIA han sido desarrollados para su uso en suero o plasma.

Los niveles de CEA en el diagnóstico del carcinoma colorectal (CRC) correlaciona con el pronóstico[5]. Niveles elevados de CEA en suero predicen un riesgo aumentado de recurrencia[6] ó de metástasis hepáticas[4]. La localización del cáncer primario puede influir en la interpretación de los niveles aumentados de CEA: en los carcinomas de colón, los niveles elevados de CEA indican un peor pronóstico pero no así en los carcinomas rectales[9]. Además la monitorizaciónde de los niveles durante la quimioterapia antes de la cirugía es informativa y el fallo en la disminución de los valores del CEA durante radioterapia preoperatoria indica la presencia de un tumor fuera del campo de radiación y un peor pronóstico[3]. Se ha observado además que los niveles elevados de CEA correlaciona inversamente con el tiempo medio estimado de recurrencia[4] y correlaciona directamente con el grado de estadiaje del tumor, el tamaño y la diferenciación en pacientes con CRC en el diagnóstico[3,4,9]. Los niveles de CEA no se encuentran siempre elevados, ya que en el suero de de aquellos con CRCs poco diferenciados se produce menos CEA pero son más agresivos que los carcinomas moderadamente o bien diferenciados[3,6]. Un nivel de CEA en alza es considerado como un indicador preciso de recurrencia en el CRC[5,8]. Los niveles disminuyen a valores normales en casi todos los pacientes despues de una resección completa en el CRC, normalemente dentro de las 4 a 6 semanas después de la cirugía[3]. La falta de disminución despues de la cirugía puede sugerir una resección incompleta[5], y los niveles en aumento pueden preceder a la recurrencia en los CRC en un promedio entre 4 ó 6 meses antes de que exista evidencia clínica en dos tercios de los casos[3,5,8]. Los incrementos de CEA tambien han sido utilzados para la selección de candidatos en la cirugia second look, junto con la imagen por anticuerpos que utilizan anticuerpos radiomarcados frente al CEA para aportar informacion sobre la localización del tumor[3]. Varios estudios han sugerido la correlación entre el el aumento del CEA y la presencia ó probabilidad de metástasis hepáticas: se han observado incrementos más elevados con metástasis hepáticas que con recurrencias localizadas y tumores localizados operables. En algunos casos el CEA ha sido la señal de una recurrencia asintomática[4].

Principio del Procedimiento

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

Ciclos de incubación: 2 × 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 centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras

físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El CEA 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 de Muestra: 15 µl de suero

Conservación: 7 días a 2–8°C durante y para períodos más prolongados congeladas a –20°C.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.



¡PRECAUCIÓN! RIESGO BIOLÓGICO POTENCIAL
Contiene material de origen humano. Cada donación de sangre humana o componente sanguíneo ha sido probada por métodos aprobados por la FDA con el fin de detectar la presencia de anticuerpos de los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2), así como el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y el anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (VHC). Los resultados de estas pruebas fueron negativos (no repetidamente reactivos). Ninguna prueba ofrece total garantía de que en las muestras no haya estos agentes infecciosos u otros; por tanto, este material se deberá manipular conforme a las prácticas recomendables de laboratorio y las precauciones universales[15-17].

Precaución: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.



H318, P280, P264, P305 + P351 + P310

¡Peligro! Provoca lesiones oculares graves. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. Lavarse las manos concienzudamente tras la manipulación. EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico. **Contiene:** etilen diamino tetraacetato de tetrasodio; Viales de Reactivo de CEA A.

H412 P273, P501

Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. Evitar su liberación al medio ambiente. Eliminar el contenido y el recipiente de acuerdo con las normativas locales, regionales y nacionales. **Contiene:** azida de sodio; Ajustadores de CEA

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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las canerias de cobre y plomo.

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

Agua: Use 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 CEA (L2CE12)
Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpo monoclonal murino anti-CEA. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KCE2: 1 cartucho
L2KCE6: 3 cartuchos

Viales de Reactivo de CEA (L2CEA2)
Con código de barras. 11,5 ml de una matriz de solución tampón/suero murino con conservante; 11,5 ml de fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con un anticuerpo policlonal de conejo anti-CEA en solución tampón, con conservante. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KCE2: 1 vial **L2KCE6:** 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 CEA (LCEL, LCEH)
Dos viales (Low y High), conteniendo diferentes concentraciones de CEA en suero humano libre de CEA liofilizada, con conservante. Reconstituir cada vial añadiendo **3,0 ml** de agua destilada. Utilizar pipetas volumétricas. Mantener durante 30 minutos y mezclar suavemente por inversión. Estable a 2–8°C durante 7 días después de la reconstitución o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KCE2: 1 juego **L2KCE6:** 2 juegos

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

Componentes del kit que se suministran por separado

Multidiluyente 2 (L2M2Z L2M2Z4)
Para la dilución en el equipo de las muestras de pacientes. Un vial concentrado listo para su uso de una matriz proteica no humana, con conservante. Conservación: 30 días (después de su apetura) a 2–8°C o 6 meses (alicuotado) a –20°C.
L2M2Z: 25 ml **L2M2Z4:** 55 ml

Se suministran etiquetas con códigos de barras para usarse con este diluyente. Antes de uso, colocar la etiqueta con el código de barras en un tubo de ensayo de 16 × 100 mm, así los código de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2M2Z: 3 etiquetas **L2M2Z4:** 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 × 100 mm)
L2ZC: 250 Casquillos Del Tubo Del Diluyente De La Muestra

También necesarios
Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles

Ensayo

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

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste: 2 semanas

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

Use controles o pools de muestrasro con dos niveles diferentes, como mínimo, de CEA (bajo y alto).

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

Valores esperados

Basado en su relación con el ensayo IMMULITE CEA (ver Comparación del Método), puede esperarse que el procedimiento IMMULITE 2000 CEA tenga esencialmente los mismos intervalos de referencia.

Se realizó un estudio del intervalo de referencia para IMMULITE CEA utilizando muestras de suero de voluntarios adultos que incluían a hombres y mujeres no embarazadas de aproximadamente 20 a 70 años de edad (95% central: 22–64 años, mediana: 40 años). Basado en un cuestionario, los sujetos se encontraban en aparente buena salud .

Se recogieron muestras de sangre en Francia, Alemania, Holanda y Portugal. Los resultados fueron generados por un laboratorio independiente en Holanda usando los kits IMMULITE. (Las muestras se recogieron en tubos de vidrio sin anticoagulantes, barreras de gel ni promotores de la coagulación y se analizaron en singlicato.)

A continuación se tabulan las medianas y el 95º percentil para los subgrupos relevantes. Los percentiles fueron determinados en forma no paramétrica.

Grupo	Mediana	Percentil 95%	Unidades	n
Hombres fumadores	2,1	6,2	ng/ml	153
Hombres no fumadores	1,1	3,4	ng/ml	226
Mujeres fumadoras	1,3	4,9	ng/ml	81
Mujeres no fumadoras	0,8	2,5	ng/ml	262

En las dos tablas siguientes se muestran los resultados de otro estudio realizado con IMMULITE CEA. El estudio fue realizado en tres lugares en los Estados Unidos. Se incluyen los resultados individuales de 153 sujetos con aparente buena salud (tanto fumadores como no fumadores), los resultados individuales de 243 pacientes con distintas enfermedades no malignas, y un total de 1382 muestras (algunas recolectadas durante un monitoreo seriado) de 657 pacientes con varios tipos de cáncer.

Tipo de Paciente	*n*	Mediana	Percentil 95%
Sujetos normales			
No fumadores	86	1,2	4,1
Fumadores	67	2,1	9,8
Enfermedades no malignas			
Enfermedades pulmonares	32	2,8	11,2
Enfermedades renales	19	1,5	6,3
Hepatitis	47	1,9	8,5
Enfermedades tiroideas	65	1,1	4,9
Otras enfermedades no malignas	80	1,9	13,6
Enfermedades malignas			
Cáncer de vejiga	27	1,5	83,1
Cáncer de pecho	46	4,1	2230
Cáncer colorrectal	944	5,1	849
Cáncer esofágico	44	4,5	323
Cáncer de pulmón	52	4,8	355
Cáncer de ovario	50	1,3	24,6
Cáncer renal	39	1	3,5
Cáncer de páncreas	19	19,4	495
Cáncer de estómago	25	56,5	277
Cáncer de próstata	29	1,2	13,2
Cáncer rectal	21	1,4	23,8
Otros cánceres	86	2	233

Tipo de Paciente	*n*	Porcentaje de muestras en el intervalo (ng/ml)			
Grupo		**0–3,0**	**3,1–5,0**	**5,1–10**	**>10**
Sujetos normales					
No fumadores	86	90,7%	7,0%	2,3%	0,0%
Fumadores	67	71,6%	14,9%	9,0%	4,5%
Enfermedades no malignas					
Enfermedades pulmonares	32	62,5%	12,5%	18,8%	6,3%
Enfermedades renales	19	73,7%	15,8%	10,5%	0,0%
Hepatitis	47	74,5%	10,6%	12,8%	2,1%
Enfermedades tiroideas	65	92,3%	3,1%	4,6%	0,0%
Otras enfermedades no malignas	80	70,0%	12,5%	10,0%	7,5%
Enfermedades malignas					
Cáncer de vejiga	27	70,4%	18,5%	3,7%	7,4%
Cáncer de pecho	46	43,5%	13,0%	10,9%	32,6%
Cáncer colorrectal	944	36,1%	13,1%	15,8%	35,0%
Cáncer esofágico	44	34,1%	22,7%	9,1%	34,1%
Cáncer de pulmón	52	38,5%	13,5%	7,7%	40,4%
Cáncer de ovario	50	86,0%	2,0%	6,0%	6,0%
Cáncer renal	39	89,7%	7,7%	0,0%	2,6%
Cáncer de páncreas	19	31,6%	5,3%	0,0%	63,2%
Cáncer de estómago	25	36,0%	0,0%	8,0%	56,0%
Cáncer de próstata	29	69,0%	24,1%	3,4%	3,4%
Cáncer rectal	21	71,4%	14,3%	0,0%	14,3%
Otros cánceres	86	58,1%	12,8%	8,1%	20,9%

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

Limitaciones

Los pacientes con carcinoma confirmado a menudo tienen niveles de CEA, antes del tratamiento, que caen en el mismo intervalo que el de las personas sanas. Frecuentemente se observan niveles elevados de CEA en fumadores, en pacientes con cáncer y en pacientes con una variedad de enfermedades no malignas y condiciones inflamatorias. Es por esto que, independientemente de su valor, no deberá interpretarse un nivel de CEA en suero como una prueba absoluta de la presencia o ausencia de una enfermedad maligna. El valor de CEA deberá usarse en conjunto con la información disponible de la evaluación clínica y de otros procedimientos de diagnóstico. El ensayo IMMULITE 2000 CEA no deberá usarse como un medio para detectar cáncer.

Algunos individuos tienen anticuerpos frente a proteinas de raton pueden provocar interferencias en los inmunoensayos que utilicen anticuerpos de ratones. En particular, las muestras de pacientes a las que se les suministre preparaciones que contengan de anticuerpos monoclonales de raton con fines terapéuticos ó de diagnóstico pueden contener anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA). Estos muestras pueden mostrar resultados erroneos en estos tratamiento pueden contener anticuerpos humanos anti-ratón[12-14] y por lotanto los resultados deben interpretarse con cautela.

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* 1998:34:27-33.] 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.)

Intervalo de calibración:
Hasta 550 ng/ml

El ensayo es trazable a un estándar interno fabricado usando procedimientos de medida y materiales cualificados.

Sensibilidad: 0,15 ng/ml

Efecto de gancho a altas dosis:
Ninguno hasta 250 000 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 “Precisión”.)

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

Recuperación: Se han analizado las muestras cargadas 1 a 19 con tres soluciones (2520, 4160 y 5580 ng/ml) de CEA. (Ver la tabla “Recuperación” para resultados representativos.)

Especificidad: El anticuerpo es altamente específico para CEA. (Véase la tabla “Especificidad”.)

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina conjugada, en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Biotina:

Nivel de análisis de biotina (ng/ml)	Concentración de ACE (ng/ml)	
	3,6	210
	Desviación (%)	
2,0	2	3
5,0	12	0
9,0	7	4
19,0	17	0
32,0	19	16
100	23	22
1500	25	23

Las muestras que contienen biotina en una concentración de 2 ng/ml han demostrado un cambio igual o inferior al 10% en los resultados. Las concentraciones de biotina superiores a esta pueden producir resultados falsamente elevados en las muestras de los pacientes.

La ingesta alimenticia de biotina recomendada en adultos es de 30 µg/día. Los suplementos alimentarios sin receta que se anuncian para mejorar el estado del cabello, la piel y las uñas pueden contener 5–100 mg de biotina, y lo que se recomienda es tomar varias píldoras al día. En estudios farmacocinéticos en adultos sanos se ha observado que, en individuos que toman 5 mg, 10 mg y 20 mg de biotina, las concentraciones en suero de biotina pueden alcanzar hasta 73 ng/ml, 141 ng/ml y 355 ng/ml, respectivamente[18]. Los individuos que toman hasta 300 mg de biotina al día pueden presentar unos niveles de biotina en plasma de hasta 1160 ng/ml[19].

Hemólisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 381 mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Lipemia: La presencia de triglicéridos en concentraciones hasta 3000 mg/dl no tiene efecto alguno en los resultados, en lo correspondiente a la precisión del ensayo.

Tipo de Muestra Alternativa: para evaluar el efecto de los diferentes tipos de muestras alternativos, se recogió sangre de 10 voluntarios en tubos normales, tubos con Heparina, tubos con EDTA y tubos vacutainer SST de Becton Dickinson. Volúmenes iguales de las diferentes muestras fueron sobrecargadas con diferentes concentraciones de antigeno carcinoembrionario, con la finalidad de cubrir todo el rango de calibración del ensayo, y procesadas con el procedimiento CEA IMMULITE 2000.

(Heparina) = 0,96 (Suero) – 0,45 ng/ml
r = 0,992

(EDTA) = 1,0 (Suero) – 0,91 ng/ml
r = 0,995

(SST) = 0,99 (tubos simples) + 0,97 ng/ml
r = 0,990

Medias:
40,9 ng/ml (Suero)
38,9 ng/ml (Heparina)
40,0 ng/ml (EDTA)
41,4 ng/ml (SST)

Comparación de los métodos: El ensayo se ha comparado con el SHBG IMMULITE en 48 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente 2,1 a 550 ng/ml. Véase el gráfico.) Por regresión lineal:

(IML 2000) = 1,06 (IML) + 5,0 ng/ml
r = 0,989

Medias*:*
204 ng/ml (IMMULITE 2000)
187 ng/ml (IMMULITE)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

IMMULITE 2000 ACE

Domaine d'utilisation : Dosage quantitatif de l'antigène carcino-embryonnaire (ACE) dans le sérum. Réservé à un usage diagnostic *in vitro* avec avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000, ce test constitue une aide dans le suivi des cancers et dans l'établissement d'un pronostic.

Référence catalogue :
L2KCE2 (200 tests), **L2KCE6** (600 tests)

Code produit : **CEA**
Code couleur : **vert clair**

Introduction

L'antigène carcinoembryonnaire (ACE) correspond à une famille hétérogène de glycoprotéines dont le poids moléculaire varie de 175 000 à 200 000 Daltons en fonction de leur constitution en carbohydrates et acides aminés. Sa fonction biologique n'est pas clairement définie, mais il semble jouer un rôle dans la reconnaissance intercellulaire, dans la régulation de la réponse immunitaire et dans les métastases du cancer colorectal.[6] Son nom provient initialement de son association aux carcinomes gastro-intestinaux et au tube digestif fœtal. Des taux élevés ont été rapportés dans de nombreuses affections malignes ou bénignes du tractus gastro-intestinal ou d'autres localisations. Citons par exemple diverses pathologies hépatiques, des lésions inflammatoires, en particulier du tractus gastro-intestinal, des infections, des traumatismes, des infarctus, des maladies vasculaires du collagène, des altérations rénales et chez les fumeurs (actuels et anciens).[2] On trouve également l'ACE à des taux bas dans le colon de sujets sains et dans d'autres tissus. Les valeurs sériques d'ACE chez des adultes en bonne santé sont en général inférieures à 5 ng/mL.[7] Bien que des valeurs sériques multipliées par cinq soient en général le signe d'une pathologie maligne, il peut exister des chevauchements considérables entre les valeurs d'ACE observées dans les pathologies malignes et bénignes. Ceci exclut l'utilisation du dosage de l'ACE comme test de dépistage d'une pathologie maligne. Le dosage de l'ACE est par contre intéressant pour l'établissement d'un pronostic, l'évaluation de l'état du malade et le suivi de celui-ci.

Jusqu'en 1980, la seule méthode de dosage de l'ACE utilisée aux Etats-Unis était le dosage radioimmunologique avec extraction. Depuis lors, des dosages isotopiques sans extraction et des dosages immunoenzymatiques de type sandwich ont été développés. Ils permettent le dosage de l'ACE dans le sérum et le plasma.

Les taux d'ACE lors du diagnostic des carcinomes colorectaux (CRC) corrèlent avec le pronostic.[5] Un taux sérique élevé d'ACE en préopératoire indique un risque augmenté de récidive[6] ou de métastases hépatiques.[4] La localisation du cancer primitif peut influencer l'interprétation d'un taux élevé d'ACE : dans les carcinomes du colon, une concentration élevée en ACE indique un mauvais pronostic, ce qui n'est pas nécessairement le cas dans les carcinomes rectaux.[9] De plus, le suivi des taux d'ACE durant une chimiothérapie précédant une intervention chirurgicale est utile et l'absence de diminution du taux d'ACE durant la radiothérapie

préopératoire révèle généralement l'existence d'une tumeur en dehors de la zone irradiée et est de mauvais pronostic.[3] Il a également été observé que des valeurs élevées préopératoires d'ACE peuvent être corrélées de manière inverse avec le temps moyen estimé de récidive[4] et corrélées directement avec le stade de la tumeur, sa taille et son état de différenciation dans les cancers colorectaux lors du diagnostic.[3,4,9] Ainsi le taux d'ACE n'est pas toujours augmenté dans le sérum de patients souffrant de cancers colorectaux peu différenciés. Ces types de cancer produisent moins d'ACE mais sont plus agressifs que des carcinomes moyennement ou bien différenciés.[3,6] Une augmentation du taux d'ACE est considérée comme l'indicateur le plus précis de la récidive des cancers colorectaux (CRC).[5,8] Les taux redeviennent normaux chez presque tous les patients après résection complète du cancer colorectal, généralement 4 à 6 semaines après l'intervention chirurgicale.[3] La persistance d'un taux élevé après chirurgie peut être le signe d'une résection incomplète,[5] une élévation des taux peut précéder dans deux tiers des cas la récidive d'un cancer colorectal quatre à six mois avant l'apparition de signes cliniques évidents.[3,5,8] L'augmentation des taux d'ACE est également utilisée comme aide à la sélection de patients nécessitant une chirurgie de « second look », en association avec les informations fournies par l'imagerie médicale nucléaire pour la localisation de la tumeur.[3] Plusieurs études ont suggéré l'existence d'une corrélation entre le degré d'augmentation de l'ACE et la présence ou la probabilité de métastases hépatiques : des élévations plus rapides d'ACE sont observées en cas de métastases hépatiques par rapport à celles observées en cas de tumeurs récurrentes localisées et de tumeurs locales résectables. Parfois, l'ACE permet la mise en évidence de récidives asymptomatiques.[4]

Principe du test

Le test IMMULITE 2000 ACE est un dosage immunométrique séquentiel chimiluminescent 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 dûs 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 ACE 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 : 15 µl de sérum

Conditions de conservation :
7 jours à 2–8°C ou plus à –20°C.

Précautions d'emploi

Usage diagnostique *in vitro*.



AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL
Contient du matériel d'origine humaine. Chaque don de sang ou de composant sanguin humain a été testé selon des méthodes homologuées par la FDA afin de détecter la présence d'anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2), ainsi que la présence d'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) et d'anticorps anti-virus de l'hépatite C (VHC). Les résultats de ces tests se sont révélés négatifs (ou positifs mais de façon non répétable). Aucun test ne peut garantir totalement l'absence d'agents infectieux tels que ceux-ci ou d'autres. Par conséquent, ce matériel doit être manipulé conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux précautions universelles.[15-17]

ATTENTION : Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.



H318, P280, P264, P305 + P351 + P310

Danger ! Provoque des lésions oculaires graves. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. Se laver soigneusement les mains après manipulation. EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. **Contient :** éthylène diamine tétraacétate de tétrasodium ; Cartouche Réactif ACE A.

H412 P273, P501

Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. Éviter le rejet dans l'environnement. Éliminer les contenus et les contenants conformément à toutes les réglementations locales, régionales et nationales. **Contient :** azide de sodium ; Ajusteurs ACE

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 la contamination et l'exposition directe au soleil. (Voir notice.)

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 ACE (L2CE12)
Avec code-barres. 200 billes revêtues d'un anticorps monoclonal murin anti-ACE. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KCE2 : 1 cartouche
L2KCE6 : 3 cartouches

Cartouche Réactif ACE (L2CEA2)
Avec code-barre. 11,5 ml d'une matrice tampon / sérum avec un conservateur; 11,5 ml d'un anticorps polyclonal de lapin anti-ACE marqué à la phosphatase alcaline (intestins de veau) dans un tampon avec un conservateur. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KCE2 : 1 cartouche
L2KCE6 : 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 ACE (LCEL, LCEH)
Deux flacons (Haut et Bas) d'ACE lyophilisé dans du sérum humain sans ACE avec conservateur. Reconstituer chaque flacon avec **3,0 ml** d'eau distillée. Laisser reposer 30 minutes. Mélanger doucement. Stables à 2–8°C pendant 7 jours après reconstitution ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KCE2 : 1 jeu **L2KCE6 :** 2 jeux

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

Composants du coffret fournis séparément

Multi-diluant 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Pour la dilution à bord des échantillons de patients. Un flacon contenant une matrice concentrée de tampon / protéines non-humaines (prêt à l'emploi), avec conservateur. Conservation: 30 jours (après ouverture) à 2–8°C ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2M2Z : 25 ml **L2M2Z4 :** 55 ml

Les étiquttes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 × 100 mm de telle façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2M2Z : 3 étiquettes
L2M2Z4 : 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 × 100 mm)
L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

Egalement requis
Eau distillée ou désionisée ; tubes ; contrôles

Protocole de dosage

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

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

Intervalle d'ajustement : 2 semaines

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

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

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

Valeurs de référence

Compte tenu de sa corrélation avec le test IMMULITE ACE (voir « Comparaison de méthodes »), le dosage doit avoir les mêmes valeurs de référence.

Une étude des valeurs de référence pour le test IMMULITE ACE a été réalisée sur des échantillons sériques provenant de volontaires, hommes et femmes non enceintes, âgés d'environ 20 à 70 ans (centré à 95 % : 22–64 ans, médiane: 40 ans), apparemment en bonne santé d'après un questionnaire.

Les échantillons sanguins ont été prélevés en France, Allemagne, Pays Bas et Portugal. Les résultats ont été obtenus par un laboratoire indépendant des Pays-Bas en utilisant les coffrets IMMULITE. (Les échantillons ont été prélevés sur tubes de verre secs, sans anticoagulants, ni gel, ni activateur de la coagulation, et dosés en simple.)

Les médianes et les 95ème percentiles pour les différents sous-groupes correspondants sont indiqué dans le tableau ci-dessous. Les percentiles ont été déterminés non paramétriquement.

Groupe	Médiane	95 %ile	Unités	*n*
Hommes fumeurs	2,1	6,2	ng/ml	153
Hommes non fumeurs	1,1	3,4	ng/ml	226
Femmes fumeuses	1,3	4,9	ng/ml	81
Femmes non fumeuses	0,8	2,5	ng/ml	262

Les résultats d'une autre étude avec le dosage IMMULITE ACE sont indiqués dans les deux tableaux suivants. L'étude a été réalisée dans trois sites aux Etats-Unis. Les résultats ont été obtenus à partir des échantillons individuels de 153 sujets apparemment en bonne santé (fumeurs et non fumeurs), de 243 patients ayant diverses pathologies non malignes et d'un total de 1382 échantillons (certains collectés durant une période de suivi) provenant de 657 patients atteints de divers types de cancer.

Catégorie de patient	*n*	Médiane	95 %ile
Sujets normaux			
Non fumeurs	86	1,2	4,1
Fumeurs	67	2,1	9,8
Pathologies non malignes			
Pathologies pulmonaires	32	2,8	11,2
Pathologies rénales	19	1,5	6,3
Hépatites	47	1,9	8,5
Pathologies thyroïdiennes	65	1,1	4,9
Autres pathologies non malignes	80	1,9	13,6
Cancers			
Cancer de la vessie	27	1,5	83,1
Cancer du sein	46	4,1	2230
Cancer colorectal	944	5,1	849
Cancer de l'œsophage	44	4,5	323
Cancer du poumon	52	4,8	355
Cancer de l'ovaire	50	1,3	24,6
Cancer du rein	39	1	3,5
Cancer du pancréas	19	19,4	495
Cancer de l'estomac	25	56,5	277
Cancer de la prostate	29	1,2	13,2
Cancer rectal	21	1,4	23,8
Autres cancers	86	2	233

Catégorie de patient	*n*	Pourcentage d'échantillon dans l'intervalle (ng/ml)			
Groupe		**0–3,0**	**3,1–5,0**	**5,1–10**	**>10**
Sujets normaux					
Non fumeurs	86	90,7%	7,0%	2,3%	0,0%
Fumeurs	67	71,6%	14,9%	9,0%	4,5%
Pathologies non malignes					
Pathologies pulmonaires	32	62,5%	12,5%	18,8%	6,3%
Pathologies rénales	19	73,7%	15,8%	10,5%	0,0%
Hépatites	47	74,5%	10,6%	12,8%	2,1%
Pathologies thyroïdiennes	65	92,3%	3,1%	4,6%	0,0%
Autres pathologies non malignes	80	70,0%	12,5%	10,0%	7,5%
Cancers					
Cancer de la vessie	27	70,4%	18,5%	3,7%	7,4%
Cancer du sein	46	43,5%	13,0%	10,9%	32,6%
Cancer colorectal	944	36,1%	13,1%	15,8%	35,0%
Cancer de l'œsophage	44	34,1%	22,7%	9,1%	34,1%
Cancer du poumon	52	38,5%	13,5%	7,7%	40,4%
Cancer de l'ovaire	50	86,0%	2,0%	6,0%	6,0%
Cancer du rein	39	89,7%	7,7%	0,0%	2,6%
Cancer du pancréas	19	31,6%	5,3%	0,0%	63,2%
Cancer de l'estomac	25	36,0%	0,0%	8,0%	56,0%
Cancer de la prostate	29	69,0%	24,1%	3,4%	3,4%
Cancer rectal	21	71,4%	14,3%	0,0%	14,3%
Autres cancers	86	58,1%	12,8%	8,1%	20,9%

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

Limites

Les patients ayant des carcinomes confirmés ont souvent des taux d'ACE en avant traitement du même ordre que ceux des personnes en bonne santé. Des taux élevés d'ACE sont fréquemment observés chez les fumeurs, chez des patients ayant un cancer et chez des patients ayant différentes pathologies bénignes ou inflammatoires. Aussi, un taux sérique d'ACE, quelque soit sa valeur, ne doit pas être considéré comme une preuve absolue de la présence ou de l'absence de pathologie maligne. La valeur d'ACE doit être interprétée en conjonction avec les informations cliniques disponibles et d'autres méthodes de diagnostic. Le dosage IMMULITE 2000 ACE ne doit pas être utilisé comme un test de dépistage du cancer.

Certaines personnes ont des anticorps dirigés contre les protéines de souris qui peuvent interférer avec les immunodosages utilisant des anticorps murins. En particulier, les échantillons provenant de patients ayant reçu des préparations d'anticorps monoclonaux murins pour diagnostic ou thérapie peuvent contenir des anticorps humains anti-souris (HAMA). Ces échantillons peuvent donner des résultats erronés avec de tels dosages.[12-14] Aussi, les résultats pour de tels patients doivent être interprétés avec précaution.

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* 1998:34:27-33.] Les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre des sérums rares et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en ng/ml. (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.)

Domaine de mesure : jusqu'à 550 ng/ml

Le dosage peut être retracé à un standard interne, manufacturé à l'aide de matériaux et procédures de mensuration qualifiées.

Sensibilité analytique : 0,15 ng/ml

Effet-crochet : aucun jusqu'à 250 000 ng/ml

Précision : les valeurs ont été établies à partir de 20 doublets dosés pendant 20 jours au cours de deux séries, soit un total de 40 séries et 80 résultats. (Voir le tableau « Precision ».)

Linéarité : des échantillons ont été dosés à différentes concentrations. (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 (2520, 4160 et 5580 ng/ml). (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : Les anticorps utilisés dans le dosage sont hautement spécifiques de l'ACE. (Voir le tableau « Specificity ».)

Bilirubine : La présence de bilirubine conjuguée ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

Biotine :

Niveau de test de biotine (ng/ml)	Concentration en ACE (ng/ml)	
	3,6	210
	Biais (%)	
2,0	2	3
5,0	12	0
9,0	7	4
19,0	17	0
32,0	19	16
100	23	22
1500	25	23

Les échantillons contenant de la biotine à une concentration de 2 ng/ml présentent un changement de résultats inférieur ou égal à 10 %. Les concentrations de biotine supérieures à cela peuvent donner des résultats faussement élevés pour les échantillons des patients.

La consommation de biotine alimentaire quotidienne recommandée chez l'adulte est de 30 µg/jour. Les suppléments alimentaires en vente libre conseillés pour améliorer la santé des cheveux, de la peau et des ongles peuvent contenir 5 à 100 mg de biotine, et il est recommandé de prendre plusieurs comprimés par jour. Des études pharmacocinétiques réalisées sur des adultes en bonne santé ont démontré que, chez les sujets qui ingèrent des doses de 5 mg, 10 mg et 20 mg de biotine, les concentrations de biotine sérique peuvent atteindre 73 ng/ml, 141 ng/ml et 355 ng/ml, respectivement.[18] Chez les sujets qui prennent jusqu'à 300 mg de biotine par jour, les niveaux de biotine plasmatique peuvent atteindre 1160 ng/ml.[19]

Hémolyse : La présence d'hémoglobine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 381 mg/dl.

Lipémie : La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 3000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

Autres types d'échantillons : pour estimer l'effet de l'utilisation de différents type d'échantillons, 10 volontaires ont été prélevés sur tubes secs, héparinés, EDTA et sur tubes vacutainer SST Becton Dickinson. Des volumes égaux de ces différents échantillons ont été mélangés avec plusieurs concentrations d'antigène carcino-embryonnaire pour obtenir des valeurs à l'intérieur du domaine de mesure du test puis dosés avec le protocole l'IMMULITE 2000 ACE.

(Hépariné) = 0,96 (Sérum) – 0,45 ng/ml
r = 0,992

(EDTA) = 1,0 (Sérum) – 0,91 ng/ml
r = 0,995

(SST) = 0,99 (tubes ordinaires) + 0,97 ng/ml
r = 0,990

Moyennes :
40,9 ng/ml (Sérum)
38,9 ng/ml (Hépariné)
40,0 ng/ml (EDTA)
41,4 ng/ml (SST)

Comparaison de méthode : le test a été comparé au test IMMULITE ACE sur 48 échantillons de patients. (Dont les concentrations allaient d'environ 2,1 à 550 ng/ml. Voir graphique.)
Par régression linéaire :

(IML 2000) = 1,06 (IML) + 5,0 ng/ml
r = 0,989

Moyennes :
204 ng/ml (IMMULITE 2000)
187 ng/ml (IMMULITE)

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

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

Italiano

CEA

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa dell'antigene carcinoembrionico (CEA) nel siero, quale ausilio nella gestione dei pazienti affetti da cancro e nella determinazione della prognosi.

Codice: **L2KCE2** (200 test),
L2KCE6 (600 test)

Codice del Test: **CEA**
Colore: **verde chiaro**

Riassunto e spiegazione del Test

L'antigene carcinoembrionale (CEA) comprende una famiglia eterogenea di glicoproteine che variano nel peso da 175 000 a 200 000 dalton a seconda del contenuto di carboidrati ed aminoacidi. La sua funzione biologica non è ben definita, ma può avere un ruolo nel riconoscimento intercellulare, nella regolazione della risposta immunitaria, e nelle metastasi del cancro colonrettale.[6] Il nome è derivato dall'ipotesi che il CEA sia presente solo nel carcinoma gastrointestinale e del tratto digestivo del feto. Sono stati rilevati livelli elevati in alcune condizioni maligne e non maligne del tratto gastrointestinale e in altri siti. Queste condizioni includono varie malattie epatiche; lesioni infiammatorie, particolarlmente del tratto gastrointestinale; infezioni; infarto; malattie vascolari del collagene; problemi renali; e fumo (presente e passato).[2] Il CEA è presente anche a livelli bassi nel colon ed in altri tessuti. Generalmente i valori nel siero in adulti sani sono inferiori a 5 ng/mL.[7] Benchè di solito i valori del siero che eccedono cinque volte il range normale indichino la presenza di una malattia maligna, i valori riscontrati in condizioni maligne e non possono sovrapporsi considerevolmente, eliminando l'utilizzo del CEA per l'individuazione di una patologia maligna. Il valore della misurazione del CEA risiede invece nella prognosi del paziente, la valutazione dello stato e nel monitoraggio.

Fino al 1980, l'unico metodo di dosaggio per il CEA utilizzato negli Stati Uniti è stato il radioimmunodosaggio con estrazione. Da allora, sono stati sviluppati alcuni dosaggi RIA che non utilizzano estrazione ed EIA tipo sandwich da utilizzarsi con campioni di siero e di plasma.

I livelli di CEA durante la diagnosi del carcinoma colorettale (CRC) correlano con la prognosi.[5] Un CEA elevato preoperazione nel siero predispone a maggior rischio di recidiva[6] o di metastasi epatiche.[4] La collocazione del cancro primario può influenzare l'interpretazione del CEA elevato: nel carcinoma del colon, livelli elevati di CEA indicano una prognosi negativa, ma questo non è sempre vero nel carcinoma rettale.[9] Inoltre, il controllo dei livelli durante la chemioterapia prima dell'intervento chirurgico può fornire informazioni, e di solito la mancata diminuzione del CEA durante la radioterapia postoperazione indica la presenza di un tumore fuori dal campo di radiazione ed una prognosi peggiore.[3]
E' stato osservato che un CEA preoperazione elevato correla in maniera inversa con il tempo medio stimato prima della recidiva,[4] e correla direttamente con la fase del tumore, lo spessore, e la differenziazione nei pazienti CRC durante la diagnosi.[3,4,9] Comunque, il CEA non è sempre elevato, nel siero di pazienti con

CRC con scarsa differenziazione, che producono meno CEA ma che sono più aggressivi dei carcinoma a differenziazione moderata o netta.[3,6] L'aumento del CEA è considerato l'indicatore più accurato di recidiva nel CRC.[5,8] I livelli diminuiscono verso la normalità in quasi tutti i pazienti dopo la resezione dei CRC, di solito entro 4–6 settimane dopo l'intervento.[3] La mancata riduzione dopo l'intervento può indicare una resezione incompleta,[5] e l'aumento dei livelli può precedere i CRC ricorrenti una media di 4–6 mesi prima che siano clinicamente evidenti in circa due terzi dei casi.[3,5,8] L'aumento dei livelli di CEA è stato utilizzato anche per selezionare candidati per una chirurgia di secondo controllo, in combinazione all'imaging degli anticorpi utilizzando anticorpi radiomarcati contro il CEA per fornire informazioni sulla posizione del tumore.[3]

Alcuni studi hanno suggerito la presenza di una correlazione tra il tasso di aumento del CEA e la presenza e la probabilità di metastasi epatiche: aumenti più rapidi sono riscontrati più frequentemente con metastasi epatiche che con recidive localizzate ed tumori localizzati resezionabili. In alcuni casi, è stato proprio il CEA a segnalare recidive asintomatiche.[4]

Principio del Dosaggio

Il dosaggio IMMULITE 2000 CEA è un dosaggio immunometrico sequenziale a due siti chemiluminescente in fase solida.

Cicli d'incubazione: 2 × 30 minuti

Prelievo dei Campioni

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

I campioni emolizzati posson 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 CEA non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume richiesto: 15 µL di siero

Conservazione: 7 giorni a 2–8°C o per una conservazione più estesa: –20°C.

Avvertenze e Precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.



ATTENZIONE! POTENZIALE PERICOLO BIOLOGICO
Contiene materiale di origine umana. Ciascuna donazione di sangue o componenti ematici umani è stata testata con metodi approvati dalla FDA per rilevare la presenza di anticorpi al virus dell'immunodeficienza umana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2), nonché per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e gli anticorpi al virus dell'epatite C (HCV). I risultati del test sono stati negativi (non ripetutamente reattivi). Nessun test offre assicurazione completa che questi o altri agenti infettivi siano assenti; questo materiale va trattato utilizzando le corrette prassi di laboratorio e le precauzioni universali.[15-17]

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale portatore e trasmettitore di agenti patogeni.

 **H318, P280, P264, P305 + P351 + P310**	**Pericolo!** Provoca gravi lesioni oculari. Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/ il viso. Lavare accuratamente le mani dopo l'uso. IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: Sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico. **Contiene:** tetraacetato di tetrasodio etilendiammina; Porta Reagente CEA A.
H412 P273, P501	Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. Non disperdere nell'ambiente. Smaltire il prodotto e il contenitore in conformità con tutte le disposizioni locali, regionali e nazionali. **Contiene:** sodio azide; Calibratori CEA

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

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati dal sangue umano sono stati testati con esito negativo per la sifilide, gli anticorpi anti-HIV 1 e 2, l'Antigene di Superficie dell'Epatite B e 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 unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

Contenitore di Sferette CEA (L2CE12)
Con codice a barre. 200 sferette, coattate con un anticorpo monoclonale murino anti-CEA. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KCE2: 1 confezione
L2KCE6: 3 confezioni

Porta Reagente CEA (L2CEA2)
Con codice a barre. 11,5 mL contenente una matrice di tampone/siero murino, con conservanti; 11,5 mL contenente fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con un anticorpo policlonale di coniglio anti-CEA in un tampone, con conservanti. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KCE2: 1 confezione
L2KCE6: 3 confezioni

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.

Calibratori CEA (LCEL, LCEH)
Due flaconi (Basso ed Alto) di CEA liofilo in siero umano privo di CEA, con conservanti. Ricostituire ogni flacone con **3,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Lasciar riposare per 30 minuti. Mescolare agitando delicatamente o invertendo la miscela finchè il materiale liofilo sia completamente dissolto. Stabile a 2–8°C per 7 giorni dopo la ricostituzione, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KCE2: 1 set **L2KCE6:** 2 set

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

Componenti del kit forniti separatamente

Multidiluente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Per la diluizione interna di campioni prelevati da pazienti. Un flacone con tampone proteico non umano concentrato (pronto all'uso), con conservanti. Conservazione: 30 giorni (dopo l'apertura) a 2–8°C oppure 6 mesi (in aliquote) a –20°C.
L2M2Z: 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

Vengono Fornite Le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare una etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm, cosicchè il codice a barre possa essere letto dal lettore interno.
L2M2Z: 3 etichette **L2M2Z4:** 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 × 100 mm) per Diluente del Campione
L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluente del Campione

Materiali richiesti
Acqua distillata o deionizzata; provette di vetro; controlli

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione: 2 settimane

Controllo di Qualità: Per la frequenza del controllo di qualità seguire le normative in vigore o i requisiti di accreditamento.

Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (alto e basso) di CEA.

Siemens Healthcare Diagnostics consiglia l'utilizzo di materiali di controllo della qualità disponibili in commercio con almeno 2 livelli (bassi e alti). Un livello soddisfacente di prestazioni si raggiunge quando i valori dell'analita ottenuti rientrano nei range di accettabilità del Controllo per il sistema o nei range stabiliti all'interno del laboratorio attraverso un programma appropriato di valutazione del controllo di qualità.

Valori Attesi

In base al suo rapporto con l'IMMULITE CEA (vedere Confronto di metodi), si può prevedere che il dosaggio avrà essenzialmente gli stessi range di riferimento.

E' stato eseguito uno studio per trovare i range di riferimento per il dosaggio CEA IMMULITE 2000 utilizzando campioni del siero di volontari adulti, inclusi uomini e donne non gravide tra i 20 ed i 70 anni (centrale 95%: 22–64 anni, media: 40 anni). I soggetti erano apparentemente in buono stato di salute, in base ad un questionario.

I campioni di sangue sono stati prelevati in Francia, Germania, Olanda e Portogallo. I risultati sono stati generati da un laboratorio indipendente in Olanda utilizzando i kit IMMULITE. (I campioni sono stati prelevati in provette di vetro senza anticoagulanti, barriere di gel o additivi che favoriscano la formazione di coaguli, e dosati in singolo.)

Di seguito sono state tabulate le mediane ed il 95° percentile per i sottogruppi rilevanti. Le percentuali sono state determinate in modo non parametrico.

Gruppo	Mediana	95° Percentile	Unità	*n*
Fumatori uomini	2,1	6,2	ng/mL	153
Non fumatori uomini	1,1	3,4	ng/mL	226
Fumatrici	1,3	4,9	ng/mL	81
Non fumatrici	0,8	2,5	ng/mL	262

I risultati dello studio con il CEA IMMULITE sono presentati nelle due tabelle seguenti. Lo studio è stato condotto in tre laboratori negli Stati Uniti. Sono inclusi i risultati individuali da 153 soggetti apparentemente sani (fumatori e non fumatori); i risultati individuali di 243 pazienti con varie malattie non maligne; ed un totale di 1382 campioni (alcuni prelevati durante il monitoraggio in serie) da 657 pazienti con vari tipi di cancro.

Categoria del paziente	*n*	Mediana	95° Percentile
Soggetti normali			
Non fumatori	86	1,2	4,1
Fumatori	67	2,1	9,8
Patologie non maligne			
Malattie polmonari	32	2,8	11,2
Malattie dei reni	19	1,5	6,3
Epatite	47	1,9	8,5
Malattie tiroidee	65	1,1	4,9
Altre malattie non maligne	80	1,9	13,6
Patologie maligne			
Cancro della vescica	27	1,5	83,1
Cancro della mammella	46	4,1	2230
Cancro colonrettale	944	5,1	849
Cancro dell'esofago	44	4,5	323
Cancro polmonare	52	4,8	355
Cancro ovarico	50	1,3	24,6
Cancro renale	39	1	3,5
Cancro del pancreas	19	19,4	495
Cancro dello stomaco	25	56,5	277
Cancro della prostata	29	1,2	13,2
Cancro del retto	21	1,4	23,8
Altri tipi di cancro	86	2	233

Categoria del paziente	*n*	Percentuale dei campioni nel range (ng/mL)			
Gruppo		0–3,0	3,1–5,0	5,1–10	>10
Soggetti normali					
Non fumatori	86	90,7%	7,0%	2,3%	0,0%
Fumatori	67	71,6%	14,9%	9,0%	4,5%
Patologie non maligne					
Malattie polmonari	32	62,5%	12,5%	18,8%	6,3%
Malattie dei reni	19	73,7%	15,8%	10,5%	0,0%
Epatite	47	74,5%	10,6%	12,8%	2,1%
Malattie tiroidee	65	92,3%	3,1%	4,6%	0,0%
Altre malattie non maligne	80	70,0%	12,5%	10,0%	7,5%
Patologie maligne					
Cancro della vescica	27	70,4%	18,5%	3,7%	7,4%
Cancro della mammella	46	43,5%	13,0%	10,9%	32,6%
Cancro colonrettale	944	36,1%	13,1%	15,8%	35,0%
Cancro dell'esofago	44	34,1%	22,7%	9,1%	34,1%
Cancro polmonare	52	38,5%	13,5%	7,7%	40,4%
Cancro ovarico	50	86,0%	2,0%	6,0%	6,0%
Cancro dei reni	39	89,7%	7,7%	0,0%	2,6%
Cancro del pancreas	19	31,6%	5,3%	0,0%	63,2%
Cancro dello stomaco	25	36,0%	0,0%	8,0%	56,0%
Cancro della prostata	29	69,0%	24,1%	3,4%	3,4%
Cancro del retto	21	71,4%	14,3%	0,0%	14,3%
Altri tipi di cancro	86	58,1%	12,8%	8,1%	20,9%

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

Limitazioni

Pazienti con carcinoma confermato presentano spesso livelli di CEA prima del trattamento nello stesso range dei soggetti normali. Livelli di CEA elevati sono frequentemente osservati in fumatori, in pazienti con cancro ed in pazienti con una varietà di patologie non maligne e condizioni infiammatorie. Per questo motivo, il livello di CEA nel siero, nonostante il suo valore, non dovrebbe essere interpretato come evidenza assoluta della presenza o assenza di una patologia maligna. Il valore del CEA dovrebbe essere usato in combinazione con le informazioni disponibili dall'analisi clinica e da altre procedure diagnostiche. Il dosaggio del CEA IMMULITE 2000 non dovrebbe essere utilizzato quale prova della presenza o assenza del cancro.

Alcuni individui presentano anticorpi anti proteine di topo che possono interferire negli immunodosaggi che fanno uso di anticorpi murini. In particulare, i campioni di pazienti cui sono stati somministrati preparati di anticorpi monoclonali murini per la diagnosi o la terapia possono contenere anticorpi umani anti-topo (HAMA). Questi campioni possono presentare risultati errati in questi dosaggi.[12-14] Per tali pazienti i risultati devono essere interpretati con cautela.

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* 1998:34: 27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedi tavole e grafici per dati *rappresentativi*. I risultati sono indicati in ng/mL. (Laddove non diversamente specificato, tutti i dati sono stati generati su campioni di siero raccolti in provette senza gel separatore o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.)

Range di calibrazione: Fino a 550 ng/mL

Il dosaggio è standardizzato verso uno standard interno preparato usato con materiali e secondo procedure di qualità.

Sensibilità analitica: 0,15 ng/mL

Effetto Gancio a Dosi Elevate:
Nessun effetto fino a 250 000 ng/mL

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

Linearità: Sono stati dosati campioni in varie forme diluite. (Vedi la Tabella “Linearity” per dati rappresentantivi.)

Recupero: Sono stati dosati campioni 1:19 ai quali sono state aggiunte tre soluzioni (2520, 4160 e 5580 ng/mL). (Vedi la Tabella “Recovery” per dati rappresentantivi.)

Specificità: Gli anticorpi utilizzati nel dosaggio CEA IMMULITE sono molto specifici per il CEA. (Vedere la tabella “Specificità”.)

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

Biotina:

	Concentrazione di CEA (ng/mL)	
Livello di test biotina (ng/mL)	3,6	210
	Bias (%)	
2,0	2	3
5,0	12	0
9,0	7	4
19,0	17	0
32,0	19	16
100	23	22
1500	25	23

I campioni che contengono biotina a una concentrazione di 2 ng/mL dimostrano una variazione nei risultati inferiore o pari al 10%. Concentrazioni di biotina superiori a questa potrebbero portare a risultati falsamente elevati nei campioni dei pazienti.

L'assunzione giornaliera raccomandata di un adulto di biotina è 30 µg/die. Gli integratori alimentari da banco promossi per la salute dei capelli, della pelle e delle unghie possono contenere 5–100 mg di biotina, con raccomandazioni relative all'assunzione di più compresse al giorno. Studi di farmacocinetica su adulti sani hanno dimostrato che, nei soggetti che assumono 5 mg, 10 mg e 20 mg di biotina, le concentrazioni sieriche di biotina possono raggiungere rispettivamente fino a 73 ng/mL, 141 ng/mL e 355 ng/mL.[18] I soggetti che assumono fino a 300 mg di biotina al giorno possono presentare livelli plasmatici di biotina fino a 1160 ng/mL.[19]

Emolisi: La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 381 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

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

Tipo di Campione Alternativo: Per determinare l'effetto di campioni alternativi, è stato prelevato del sangue da 10 volontari in provette semplici, eparinizzate, EDTA e Becton Dickinson vacutainer SST. Ad ugual volumi di campioni misti sono state aggiunte varie concentrazioni di antigene carcinoembrionico per ottenere valori lungo l'intero range di calibrazione del dosaggio e quindi dosati con il kit IMMULITE 2000 CEA.

(Eparina) = 0,96 (Siero) – 0,45 ng/mL
r = 0,992

(EDTA) = 1,0 (Siero) – 0,91 ng/mL
r = 0,995

(SST) = 0,99 (tubi semplici) + 0,97 ng/mL
r = 0,990

Valore medio:
40,9 ng/mL (Siero)
38,9 ng/mL (Eparina)
40,0 ng/mL (EDTA)
41,4 ng/mL (SST)

Confronto di metodi: Il dosaggio è stato comparato al dosaggio CEA IMMULITE su 48 campioni di pazienti. (Range di concentrazione: da 2,1 fino a 550 ng/mL. Vedi grafico.) Con regressione lineare:

(IML 2000) = 1,06 (IML) + 5,0 ng/mL
r = 0,989

Valore medio:
204 ng/mL (IMMULITE 2000)
187 ng/mL (IMMULITE)

Assistenza Tecnica

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

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

CEA

Utilização: Para o doseamento *in vitro* diagnóstico do antigénio carcinoembrionário (CEA) em soro, em conjunto com os Analisadores dos Sistemas IMMULITE 2000, como auxílio no controlo de doentes de cancro e na avaliação de prognóstico.

Números de catálogo:
L2KCE2 (200 testes),
L2KCE6 (600 testes)

Código do teste: **CEA** Cor: **Verde claro**

Sumário e explicação do teste

O antigénio carcinoembrionário (CEA) é composto de uma família heterogénea de glicoproteínas variando em peso molecular de 175 000 a 200 000 daltons devido à composição variada de hidratos de carbono e aminoácidos. A sua função biológica não está bem definida, mas pode ter um papel no reconhecimento intercelular, na regulação da resposta imunológica e na metástase de cancro colorectal[6]. O nome é derivado de uma convicção prévia de que o CEA estava presente apenas em carcinomas gastrointestinais e no tracto digestivo fetal. Níveis elevados foram detectados desde então em várias condições malignas e

não malignas do tracto gastrointestinal e de outras áreas. Estas condições incluem várias doenças hepáticas,lesões inflamatórias, especialmente do tracto gastrointestinal; infecções; trauma; enfarte; doença vascular do colagénio; deterioração renal; e consumo de tabaco (actual e passado)[2]. O CEA também ocorre, em baixos níveis, no cólon normal e outros tecidos. Os valores de soro em adultos saudáveis são geralmente inferiores a 5 ng/mL[7]. Embora valores de soro superiores a cinco vezes o valor normal geralmente indiquem um estado maligno, valores de estados maligno e não maligno podem sobrepor-se consideravelmente, excluindo o uso de CEA como indicador de malignidade. Em vez disso, o valor da medição de CEA reside no prognóstico do doente, avaliação de estado e monitorização.

Até 1980, o único método de doseamento para CEA utilizado nos Estados Unidos era um radioimunoensaio que requeria extracção. Desde então, outros radioimunoensaios sem extracção e EIA, tipo sanduíche, foram desenvolvidos para uso em amostras de soro e plasma.

Os níveis de CEA no diagnóstico de carcinoma colorectal (CRC) têm uma relação mútua com o prognóstico[5]. Níveis elevados de CEA em soro pré-operativo predizem um aumento no risco de recorrência[6] ou metástase hepática[4]. O local do cancro primário pode influenciar a interpretação de CEA elevado: em carcinomas de cólon, altos níveis de ACE indicam um mau prognóstico, mas o mesmo não é necessariamente verdadeiro para carcinomas rectais[9]. Além disso, os níveis de monitorização durante a quimioterapia antes de cirurgia podem ser informativos, e falha na diminuição de CEA durante a radioterapia pré-operativa geralmente indica a presença de tumor fora do campo de radiação e um prognóstico ainda pior[3]. CEA elevado pré-operativo também tem sido observado em correlação inversa com o tempo médio estimado de recorrência[4], e em correlação directa com o grau de desenvolvimento, espessura e diferenciação do tumor em doentes de CRC durante o diagnóstico[3,4,9]. O CEA nem sempre é elevado, porém, em soro com os CRC pouco diferenciados, produzem menos CEA mas são mais agressivos do que carcinomas pouco ou moderadamente diferenciados[3,6]. A elevação do nível de CEA é considerado como o indicador mais preciso de recorrência em CRC[5,8]. O nível decresce para normal em praticamente todos os doentes após a remoção completa de CRC, geralmente entre 4 a 6 semanas após cirurgia[3]. A não descida de nível após a cirurgia pode sugerir ressecção incompleta[5], e níveis em elevação podem preceder uma recorrência de CRC em 4 a 6 meses, em média, antes de se tornarem clinicamente evidentes em cerca de dois terços dos casos[3,5,8]. Níveis crescentes de CEA também são utilizados para auxiliar na selecção de candidatos a uma segunda cirurgia , em conjunto com técnicas de imagem usando anticorpos marcados radioactivamente contra CEA para proporcionar informação sobre localização do tumor[3]. Vários estudos sugerem uma correlação entre a taxa de aumento do CEA e a presença ou probabilidade de metástase hepática com recorrência localizada e tumores localizados sensíveis à ressecção. Em alguns casos, o CEA é o sinal de recorrências assintomáticas[4].

Princípio do procedimento

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

Ciclos de incubação: 2 × 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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 CEA não foram ainda testados com todas as possiveis 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: 15 µL soro

Estabilidade: 7 dias a 2–8°C, ou para períodos mais longos de armazenamento: –20°C.

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.



PRECAUÇÃO! POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO
Contém material de origem humana. Cada dádiva de sangue ou componente de sangue humano foi testada pelos métodos aprovados pela FDA quanto à presença de anticorpos dos vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e tipo 2 (VIH-2), bem como do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e dos anticorpos do vírus da hepatite C (VHC). Os resultados dos testes foram negativos (não repetidamente reativos). Nenhum teste oferece total garantia de que estes ou outros agentes infeciosos estejam ausentes; este material deve ser manuseado de acordo com as boas práticas laboratoriais e precauções universais[15-17].

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.



H318, P280, P264, P305 + P351 + P310

Perigo! Provoca lesões oculares graves.
Usar luvas de protecção/ vestuário de protecção/ protecção ocular/protecção facial. Lavar cuidadosamente as mãos após manuseamento.
SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos.
Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.
Contém: etilenodiamino-tetracetato tetrassódico; Embalagem de reagentes “A” de CEA.

H412
P273, P501

Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.
Evitar a libertação para o ambiente. Eliminar o conteúdo e o recipiente em conformidade com todos os regulamentos locais, regionais e nacionais.
Contém: azida de sódio; Ajustes de CEA

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as normas aplicadas.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas obtidas de soro humano foram testadas, dando 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.

A azida sódica foi adicionada como conservante a concentrações inferiores a 0,1 g/dL. Quando eliminar o produto, utilize água em abundância para evitar a acumulação de azidas metálicas potencialmente explosivas nas canalizações de chumbo e cobre.

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

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 CEA (L2CE12)
Com código de barras. Contém 200 esferas revestidas com anticorpo monoclonal anti-CEA. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KCE2: 1 embalagem
L2KCE6: 3 embalagens

Embalagem de reagentes de CEA (L2CEA2)
Com código de barras. 11,5 mL com matriz de soro de rato tamponizada, com conservante; 11,5 mL com fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugado com anticorpo policlonal anti-CEA de coelho, tamponizado, com conservante. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KCE2: 1 embalagem
L2KCE6: 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 CEA (LCEL, LCEH)
Contém dois frascos (nível alto e baixo) de CEA liofilizado em base de soro humano livre de CEA, com conservante. Reconstitua cada frasco com **3,0 mL** de água destilada ou desionizada. Deixe repousar durante 30 minutos. Misture por inversão ou movimentos lentos até o material liofilizado dissolver completamente. Estável, após a reconstituição, durante 7 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20 °C.
LKCE1: 1 conjunto **LKCE5:** 2 conjuntos

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

Componentes do kit fornecidos separadamente

Multidiluente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Para diluição no instrumento de amostras de pacientes. Um frasco, de concentrado (pronto a usar) constituido por uma matriz baseada em proteína não humana, com conservante. Estabilidade: 30 dias (após abertura) a 2–8°C ou 6 meses (em alíquotas) a –20°C
L2M2Z: 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2M2Z: 3 etiquetas
L2M2Z4: 5 etiquetas

L2SUBM: Substrato quimioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Kit de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)
L2ZT: 250 Tubos de diluente da amostra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

Também necessário
Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos

Doseamento

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

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

Intervalo entre ajustes: 2 semanas

Amostras de controlo de qualidade:
Observe os regulamentos governamentais ou os requisitos de acreditação quanto à frequência do controlo de qualidade.

Utilize controlos ou “pools” com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de CEA.

A Siemens Healthcare Diagnostics recomenda a utilização de materiais de controlo de qualidade comercialmente disponíveis com pelo menos 2 níveis (baixo e alto). É alcançado um nível de desempenho satisfatório quando os valores dos analitos obtidos estiverem dentro dos Limites de Controlo Aceitáveis para o sistema ou dentro dos limites estabelecidos e determinados pelo regime de controlo de qualidade laboratorial interno adequado.

Valores de Referência

Baseado no seu relacionamento com o Kit IMMULITE CEA (veja Comparação de Métodos), pode-se esperar que os doseamentos tenham essencialmente as mesmas faixas de referência.

Foi realizado um estudo do intervalo de referência para o CEA IMMULITE usando amostras de soro de voluntários adultos, incluindo homens e mulheres não-gravidas com idade compreendida entre os 20 e os 70 anos (central 95%: 22–64 anos, mediana 40 anos), baseado num questionário, estes voluntários apresentavam-se saudáveis.

As amostras de sangue foram colhidas em França, Alemanha, Holanda e Portugal. Os resultados foram obtidos num laboratório independente na Holanda usando kits IMMULITE. (As amostras foram colhidas em tubos de vidro sem anticoagulantes, barreiras de gel, ou aditivos promotores da coagulação e doseados individualmente.)

A distribuição dos resultados dos subgrupos está tabelada abaixo. O percentil foi determinado não paramétricamente.

Grupo	Média	Percentil 95%	Unidades	*n*
Homens fumadores	2,1	6,2	ng/mL	153
Homens não fumadores	1,1	3,4	ng/mL	226
Mulheres fumadoras	1,3	4,9	ng/mL	81
Mulheres não fumadoras	0,8	2,5	ng/mL	262

Os resultados de outro estudo efectuado com o doseamento de CEA IMMULITE são apresentados nas duas tabelas abaixo. O estudo foi realizado em três clínicas nos Estados Unidos. Incluídos abaixo estão os resultados individuais de 153 indivíduos em aparentemente boa saúde (fumadores e não fumadores); resultados individuais de 243 doentes com várias doenças não malignas; e um total de 1382 amostras (algumas recolhidas durante monitorização em série) de 657 doentes com vários tipos de cancro.

Categoria dos doentes	*n*	Média	Percentil 95%
Indivíduos Normais			
Não fumadores	86	1,2	4,1
Fumadores	67	2,1	9,8
Doenças Não malignas			
Doenças pulmonares	32	2,8	11,2
Doenças renais	19	1,5	6,3
Hepatite	47	1,9	8,5
Doenças da tiróide	65	1,1	4,9
Outras doenças não malignas	80	1,9	13,6
Doenças malignas			
Cancro da bexiga	27	1,5	831
Cancro da mama	46	4,1	2230
Cancro colorectal	944	5,1	849
Cancro de esófago	44	4,5	323
Cancro de pulmão	52	4,8	355
Cancro de ovário	50	1,3	24,6
Cancro renal	39	1	3,5
Cancro pancreático	19	19,4	495
Cancro do estômago	25	56,5	277
Cancro da próstata	29	1,2	13,2
Cancro do recto	21	1,4	23,8
Outros tipos de cancro	86	2	233

Categoria do doente	*n*	Percentagem de amostras numa faixa (ng/mL)			
Grupo		**0–3,0**	**3,1–5,0**	**5,1–10**	**>10**
Indivíduos Normais					
Não fumadores	86	90,7%	7,0%	2,3%	0,0%
Fumadores	67	71,6%	14,9%	9,0%	4,5%
Doenças Não malignas					
Doenças pulmonares	32	62,5%	12,5%	18,8%	6,3%
Doenças renais	19	73,7%	15,8%	10,5%	0,0%
Hepatite	47	74,5%	10,6%	12,8%	2,1%
Doenças da tiróide	65	92,3%	3,1%	4,6%	0,0%
Outras doenças não malignas	80	70,0%	12,5%	10,0%	7,5%
Doenças malignas					
Cancro da bexiga	27	70,4%	18,5%	3,7%	7,4%
Cancro da mama	46	43,5%	13,0%	10,9%	32,6%
Cancro colorectal	944	36,1%	13,1%	15,8%	35,0%
Cancro de esófago	44	34,1%	22,7%	9,1%	34,1%
Cancro de pulmão	52	38,5%	13,5%	7,7%	40,4%
Cancro de ovário	50	86,0%	2,0%	6,0%	6,0%
Cancro renal	39	89,7%	7,7%	0,0%	2,6%
Cancro pancreático	19	31,6%	5,3%	0,0%	63,2%
Cancro do estômago	25	36,0%	0,0%	8,0%	56,0%
Cancro da próstata	29	69,0%	24,1%	3,4%	3,4%
Cancro do recto	21	71,4%	14,3%	0,0%	14,3%
Outros tipos de cancro	86	58,1%	12,8%	8,1%	20,9%

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

Limitações

Doentes com carcinoma confirmado apresentam frequentemente níveis de CEA de pré-tratamento com os mesmos valores de pessoas saudáveis. Níveis elevados de CEA são frequentemente observados em fumadores, em doentes de cancro e em doentes com uma variedade de doenças não malignas e condições inflamatórias. Portanto, o nível de CEA no soro, independente de seu valor, não deve ser interpretado como evidência absoluta da presença ou ausência de doença maligna. O valor de CEA deve ser utilizado em conjunto com informações disponíveis provindas de avaliação clínica e outros procedimentos de diagnóstico. O doseamento de CEA de IMMULITE 2000 não deve ser utilizado como um teste de rastreio de cancro.

Alguns indivíduos possuem anticorpos para a proteína do rato que podem causar interferência nos imuno-ensaios que empregam anticorpos derivados do rato. As amostras de doentes que receberam preparações de anticorpos monoclonais de ratos para diagnósticos ou terapia, em particular, podem conter anticorpos anti-rato (HAMA). Essas amostras podem mostrar resultados incorrectos em tais doseamentos[12-14]. Portanto, os resultados destes doentes devem ser interpretados com precaução.

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* 1998:34:27-33.] 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 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.

Calibração: Até 550 ng/mL

O ensaio é monotorizado com padrão interno feito com materiais qualificados e procedimentos de medição.

Sensibilidade Analítica: 0,15 ng/mL

Efeito Hook de Alta Dose:
nenhum até 250 000 ng/mL

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

Linearidade: As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. (Ver a tabela de "Linearidade" para dados representativos.)

Recuperação: As amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 com três soluções (2520, 4160 e 5580 ng/mL) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recuperação" para dados representativos.)

Especificidade: Os anticorpos utilizados no procedimento de CEA IMMULITE são específicos para CEA. (Consulte a tabela de "Specificity".)

Bilirrubina: A presença de bilirrubina conjugada em concentrações até 200 mg/L não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Biotina:

Nível de Teste de Biotina (ng/mL)	Concentração de CEA (ng/mL)	
	3,6	210
	Bias (%)	
2,0	2	3
5,0	12	0
9,0	7	4
19,0	17	0
32,0	19	16
100	23	22
1500	25	23

As amostras que contenham biotina a uma concentração de 2 ng/mL demonstram uma alteração igual ou inferior a 10% nos resultados. Concentrações de biotina superiores a esta poderão originar resultados falsamente elevados para as amostras de doentes.

A ingestão diária dietética recomendada de biotina para adultos é de 30 µg/dia. Os suplementos dietéticos de venda livre promovidos para uso na saúde dos cabelos, pele e unhas podem conter de 5 a 100 mg de biotina, com recomendações para tomar vários comprimidos por dia. Estudos farmacocinéticos em adultos saudáveis mostraram que, em indivíduos que ingerem 5 mg, 10 mg e 20 mg de biotina, as concentrações séricas de biotina podem atingir até 73 ng/mL, 141 ng/mL e 355 ng/mL, respetivamente[18]. Os indivíduos que ingerem até 300 mg de biotina por dia podem ter níveis plasmáticos de biotina tão altos quanto 1160 ng/mL[19].

Hemolise: A presença de hemoglobina em concentrações até 381 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipemia: A presença de triglicéridos em concentrações até 3000 mg/dL não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Tipo de amostra alternativa: Para determinar o efeito de amostras alternatives, foi colhido sangue de 10 voluntários em tubos secos, com EDTA, heparinizados e tubos de vacum SST da Becton Dickinson. A volumes iguais das mesmas amostras foram adicionadas várias concentrações de antigénio carcinoembrionário para obter valores ao longo da gama de calibração do ensaio. As amostras foram doseadas com o IMMULITE 2000 CEA.

(Heparina) = 0,96 (Soro) – 0,45 ng/mL
r = 0,992

(EDTA) = 1,0 (Soro) – 0,91 ng/mL
r = 0,995

(SST) = 0,99 (tubos simples) + 0,97 ng/mL
r = 0,990

Médias:
40,9 ng/mL (Soro)
38,9 ng/mL (Heparina)
40,0 ng/mL (EDTA)
41,4 ng/mL (SST)

Comparação de Métodos: O doseamento foi comparado com o Kit CEA IMMULITE em 48 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 2,1 a 550 ng/mL. Vêr gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 1,06 (IML) + 5,0 ng/mL
r = 0,989

Médias:
204 ng/mL (IMMULITE 2000)
187 ng/mL (IMMULITE)

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE is a trademark of
Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2017-2020 Siemens Healthcare Diagnostics.
All rights reserved.

Made in: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

CE

2020-08-04

PIL2KCE – 15

cc#CC-00192-LLB

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol Definition

IVD

En: *In vitro* diagnostic medical device
De: Medizinisches Gerät zur *In-vitro* Diagnose
Es: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
Fr: Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
It: Dispositivo medico per diagnostica *in vitro*
Pt: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

REF

En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo

Symbol Definition



En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante



En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia



En: CE Mark
De: CE-Kennzeichen
Es: Marca CE
Fr: Marque CE
It: Marchio CE
Pt: Marca CE



En: CE Mark with identification number of notified body
De: CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle
Es: Marca CE con número de identificación del organismo notificado
Fr: Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié
It: Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato
Pt: Marca CE, com número de identificação do organismo notificado



En: Consult instructions for use
De: Bedienungshinweise beachten
Es: Consulte las instrucciones de uso
Fr: Consulter le mode d'emploi
It: Consultare le istruzioni per l'uso
Pt: Consulte as instruções de utilização

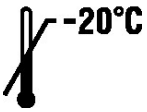
Symbol Definition



En: Caution! Potential Biohazard
De: Vorsicht! Biologisches Risikomaterial
Es: ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial
Fr: Avertissement ! Risque biologique potentiel
It: Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico
Pt: Atenção! Potenciais Riscos Biológicos



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



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



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



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



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

Symbol	Definition
	**En:** Keep away from sunlight **De:** Vor Sonneneinstrahlung schützen **Es:** Proteger de la luz solar **Fr:** Maintenir hors de portée de la lumière du soleil **It:** Non esporre alla luce del sole **Pt:** Manter afastado da luz solar
LOT	**En:** Batch code **De:** Chargenbezeichnung **Es:** Número de lote **Fr:** Numéro de code du lot **It:** Codice lotto **Pt:** Código de lote
	**En:** Contains sufficient for (n) tests **De:** Es reicht für (n) Tests **Es:** Contiene suficiente para (n) pruebas **Fr:** Contient du matériel suffisant pour (n) tests **It:** Contiene materiale sufficiente per (n) test **Pt:** Contém o suficiente para (n) testes
2008-01	**En:** Date format (year-month) **De:** Datumsformat (Jahr-Monat) **Es:** Formato de fecha (año-mes) **Fr:** Format de la date (année-mois) **It:** Formato data (anno-mese) **Pt:** Formato de data (ano-mês)
	**En:** Use by **De:** Verwendbar bis **Es:** Fecha de caducidad **Fr:** A utiliser avant **It:** Usare entro **Pt:** Usar até
	**En:** Health Hazard **De:** Gesundheitsgefährdung **Es:** Peligro para la salud **Fr:** Dangereux pour la santé **It:** Pericolo per la salute **Pt:** Perigo para a saúde
	**En:** Exclamation Mark **De:** Ausrufezeichen **Es:** Signo de exclamación **Fr:** Point d'exclamation **It:** Punto esclamativo **Pt:** Ponto de exclamação
	**En:** Corrosion **De:** Korrosion **Es:** Corrosión **Fr:** Corrosion **It:** Corrosione **Pt:** Corrosão

Symbol	Definition
	**En:** Skull and Crossbones **De:** Totenkopf mit gekreuzten Knochen **Es:** Calavera y tibias cruzadas **Fr:** Tête de mort sur tibias croisés **It:** Teschio e tibie incrociate **Pt:** Caveira sobre tíbias cruzadas
	**En:** Environment **De:** Umwelt **Es:** Medio ambiente **Fr:** Environnement **It:** Ambiente **Pt:** Ambiente
BEAD PACK	**En:** Bead Pack **De:** Kugel-Container **Es:** Cartucho de bolas **Fr:** Cartouche de billes **It:** Contenitore di biglie **Pt:** Embalagem de esferas
TEST UNIT	**En:** Test Unit **De:** Testeinheit **Es:** Unidades de análisis **Fr:** Unité de test **It:** Test Unit **Pt:** Unidades de Teste
REAG WEDGE REAG WEDGE A REAG WEDGE B REAG WEDGE D	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto

Symbol	Definition
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL CONTROL 1 CONTROL 2 CONTROL 3	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo

Symbol	Definition
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

CMV IgG

For the Qualitative Detection of IgG Antibodies to Cytomegalovirus (CMV) in Human Serum

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 CMV IgG

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the qualitative detection of IgG antibodies to cytomegalovirus (CMV) in human serum, as an aid in the determination of serological status to CMV.

> This kit is not FDA cleared for use in testing (i.e. screening) blood or plasma donors.

Catalog Number: **L2KCVG2** (200 tests)

Test Code: **CVG** Color: **Brown**

Summary and Explanation

Cytomegalovirus (CMV), a member of the herpesvirus family, is found throughout the world. Humans of all ages are susceptible and infection is spread through sexual contact, direct exposure to infected body fluids, blood transfusions and organ transplants.[1,2,5,6] The majority of infections are asymptomatic; however, CMV infections can be severe in neonates and immunocompromised individuals.[6,7] Infection can also be severe in patients with congenital or acquired cellular immune defects, including cancer patients, organ recipients and AIDS patients.[5,6,8]

CMV is the most common congenital infection, infecting between 0.5 and 2.5 percent of newborn infants. Five percent of these will develop classic cytomegalic inclusion disease with jaundice, pneumonia and central nervous system disorder. Infected infants may be asymptomatic at birth, but can develop neurological problems later in life.[3,4]

Between 40 and 100 percent of people have detectable antibody,[9] with the prevalence highest in developing countries.

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 CMV IgG is a solid-phase, sequential 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.

Samples which are cloudy or have particulate material should be clarified by low-speed centrifugation.

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 CMV IgG 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: 10 µL serum

Storage: 3 days at 2–8°C, or 6 months at –20°C.[11]

Automatic Predilution Factor: 20

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.



CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD
Contains human source material. Each donation of human blood or blood component was tested by FDA-approved methods for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) as well as for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis C virus (HCV). The test results were negative (not repeatedly reactive). No test offers complete assurance that these or other infectious agents are absent; this material should be handled using good laboratory practices and universal precautions.[12-14]

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.

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.

The bead is coated with *inactivated* CMV antigen. However, caution is advised because of the possible presence of residual virus when working with, or disposing of, the materials supplied.

The anti-CMV IgG results determined for a given specimen with assays from different manufacturers can vary due to differences in assay methods and reagent specificity. Therefore, the results reported by the laboratory to the physician should include: "The following results were obtained with the IMMULITE 2000 CMV IgG EIA. Results obtained from other manufacturers' assay methods may not be used interchangeably."

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.

CMV IgG Bead Pack (L2CVG12)
With barcode. 200 beads, coated with inactivated, partially purified CMV antigen (strain AD-169 from infected cell lysates). Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KCVG2: 1 pack

CMV IgG Reagent Wedge (L2CVGA2)
With barcode. Two reagents: 11.5 mL buffer solution, 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to monoclonal murine anti-human IgG antibody in buffer, with preservative. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KCVG2: 1 wedge

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.

CMV IgG Adjustor (LCVGR)
4 mL human serum with IgG reactive to CMV, in buffer, with preservative. The Adjustor serves as the assay's Cutoff. Stable at 2–8°C for 14 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KCVG2: 1 vial

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.

CMV IgG Controls (LCVGC1, LCVGC2)
LCVGC1: One vial (2.0 mL) negative control containing human serum with IgG nonreactive to CMV, with preservative.
LCVGC2: One vial (2.0 mL) positive control containing human serum with IgG reactive to CMV, with preservative. Stable at 2–8°C for 14 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KCVG2: 1 set

The IMMULITE 2000 software performs automatic on-board dilution of control samples, and the results will be tracked in the QC database. Enter controls as controls.

For the current control ratio ranges, please refer to the Control insert.

IgG/IgM Sample Diluent (L2IGZ2)
For the on-board dilution of patient samples and controls. 55 mL Concentrated (ready-to-use) nonhuman protein/buffer matrix, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KCVG2: 1 vial

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.
L2KCVG2: 3 labels

Kit Components Supplied Separately

IgG/IgM Sample Diluent (L2IGZ2)
For the on-board dilution of patient samples and controls. 55 mL Concentrated (ready-to-use) nonhuman protein/buffer matrix, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2IGZ2: 1 vial

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.
L2IGZ2: 5 labels

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate
L2PWSM: Probe Wash
L2KPM: Probe Cleaning Kit
LRXT: Reaction Tubes (disposable)
L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

LCVGCM: Bi-level CMV IgG Control Module

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 Systems Operator's Manual.

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

Recommended Adjustment Interval:
4 weeks

Quality Control Samples: The CMV IgG Controls supplied with the kit should be used as quality control material to monitor the performance of the assay at the cutoff range. The Positive Control is used to validate the IMMULITE 2000 CMV IgG assay at a critical level when determining the serological status of a patient.

The Controls should be processed at (or near) the beginning of every run containing patient samples to be tested for CMV IgG, and also when readjusting. (For many laboratories, this will mean processing appropriate controls once per shift.)

For the current control ratio ranges, please refer to the Control insert.

Calculation of Cutoff and S/CO Ratio:
The Master Cutoff of the assay was determined from representative samples to achieve optimal sensitivity and specificity for the assay.

The cutoff is set equal to the average counts per second (mean cps) of the Adjustor (from the most recent adjustment) multiplied by Curve Parameter 1. (See the "Low Adjustor CPS" and "Curve Parameter 1" fields in the IMMULITE 2000 Kit Information screen, which can be accessed from the menu via Data Entry: Kit Entry.)

Calculation of a signal/cutoff (s/co) ratio is done by using the following formula:

$$\text{S/CO Ratio} = \frac{\text{Sample or Control cps}}{\text{Mean Adjustor cps} \times \text{P1}}$$

Calculation and reporting of qualitative (reactive/nonreactive/indeterminate) and s/co ratio results are handled automatically by the IMMULITE 2000.

The result for a sample is reported as “Indeterminate” if the counts per second for that sample fall within ±10% of the cutoff. The result is reported as “Reactive” if the sample's counts are *above* the indeterminate range, and “Nonreactive” if *below* this range.

Additional controls may be tested in accordance with guidelines or requirements of local, state and/or federal regulations or accrediting organizations.

It is also recommended that known reactive and nonreactive specimens be run periodically to assure pipetting accuracy for the dilution step.

Interpretation of Results

A result of **"Reactive"** (ratio of ≥ 1.1) indicates that CMV IgG antibodies were detected in the patient sample.

A result of **"Nonreactive"** (ratio of < 0.9) indicates that CMV IgG antibodies were not detected in the patient sample.

Any result of **"Indeterminate"** (ratio between 0.9 and < 1.1) should be retested. Samples which still test as "Indeterminate" should be tested by an alternate method, or a second sample should be taken — if possible — within a reasonable period of time (e.g., one week).

The presence of IgG antibodies to CMV is an indication of previous exposure to the virus. A single specimen can only be used to determine the serological status of the individual.

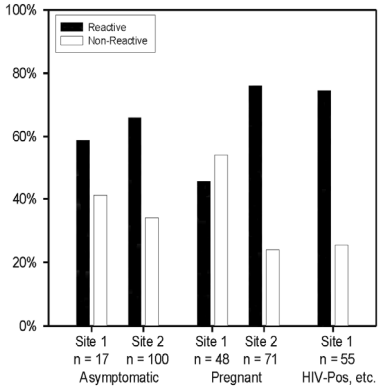
The magnitude of the measured results (cps) above the Cutoff is not indicative of the total amount of antibodies detected.

Expected Values

Based on its relationship to IMMULITE CMV IgG (see Method Comparison), the assay can be expected to have essentially the same reference ranges.

Individuals with CMV may not exhibit detectable levels of IgG antibody in the early stages of infection. Levels of IgG antibody to CMV begin to rise one or two weeks after primary infection. Normal, healthy individuals will not have significant changes in their antibody level with reactivation of the virus. Patients with AIDS and other immunosuppressed individuals — e.g. those with organ transplants — may have rapid increases in IgG levels with recurrent infections.[3,6,9]

Studies with presumed healthy, asymptomatic subjects were conducted at two locations in the US. At one location (Site 1) in the northwestern US, the subjects consisted of 17 individuals undergoing a pre-employment screening (4 females and 13 males), with ages ranging from 21 to 42 years (samples were stored at 2–8°C if the assay was performed within 4 days, otherwise samples were frozen at –20°C). At a second location in the southwestern US, the subjects consisted of 100 blood donors (54 females and 46 males), with ages ranging from 17 to 71 years (samples were collected and frozen).



The prevalence of CMV reactivity was found to be 59% (Site 1) and 66% (Site 2) in these two distinct geographical locations in the United States.

These study sites also included 48 (Site 1) and 71 (Site 2) pregnant women, with ages ranging from 18 to 43 years (Site 1) and 14 to 48 years (Site 2). The prevalence of CMV reactivity for this specific population at these two sites was 46% and 76%, respectively.

Additional studies were conducted at Site 1 with a total of 55 patients who were either HIV positive, had AIDS, or were immunocompromised for other reasons. The prevalence of CMV infections in this group was 75%.

The prevalences listed above for asymptomatic, pregnant and immunocompromised subjects are similar to those reported in the literature.[9] However, prevalence may vary due to geographical or population differences.

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

Limitations

The results of the test must be taken within the context of the patient's clinical history, symptomology and other laboratory findings.

The presence of IgG antibodies in a single specimen is not sufficient to distinguish between active or past infection.

The presence of a primary infection, or reactivation of a past infection, should be determined by isolation of the virus in tissue culture.[3,9]

Patients suspected of having primary or active infection should be tested for the presence of IgM antibodies to CMV.

For the determination of seroconversion from *nonreactive* to *reactive*, a second serum sample should be drawn three to four weeks after the acute, nonreactive sample, during the convalescent stage of the infection. The acute phase sample should be stored and tested in parallel with the convalescent sample.

Individuals with acute CMV infection may not exhibit any detectable IgG antibodies at the early stage of infection.

Samples containing antinuclear antibodies or other anticell antibodies may give false reactive results.

A rise in CMV antibody level may occur in patients with measles, varicella-zoster virus (VZV) or herpes simplex virus (HSV) due to antigenic crossreactivity within the herpesvirus family. Patients with acute EBV (Epstein-Barr Virus) infection may show increased reactivity to other viruses, including CMV.

The results in HIV patients, in patients undergoing immunosuppressive therapy, or in patients with other disorders leading to immunosuppression, should be interpreted with caution.

The performance characteristics of this assay have not been established for use with specimens from neonates, cord blood, or pretransplant patients.

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 as a signal-to-cutoff ratio. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Intraassay Precision (Within-Run): Statistics were calculated for samples from the results of 20 replicates in a single run. (See “Intraassay Precision” table.)

Interassay Precision (Run-to-Run): Statistics were calculated for samples assayed in 4 different runs. (See “Interassay Precision” table.)

Alternate Sample Type: To assess the effect of alternate sample types, blood was collected from 20 volunteers into plain, heparinized, EDTA and Becton Dickinson SST® vacutainer tubes. Equal volumes of the matched samples were spiked with various concentrations of CMV IgG, to obtain values throughout the calibration range of the assay, and then assayed by the IMMULITE 2000 CMV IgG procedure.

(EDTA) = 0.99 (Serum) + 0.03
r = 0.998

(Heparin) = 0.99 (Serum) + 0.19
r = 0.997

(SST) = 1.0 (Plain Tubes) + 0.10
r = 0.997

Means:
9.7 (Serum)
9.6 (EDTA)
9.8 (Heparin)
9.9 (SST)

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 539 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 3000 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Method Comparison: The assay was compared to IMMULITE CMV IgG on 229 samples.

	IMMULITE 2000		
IMMULITE	React.	Ind	Nonreact.
Reactive	165	0	0
Indeterminate	0	0	1
Nonreactive	0	0	63

Agreement: 99.6%
Relative Sensitivity: 100%
Relative Specificity: 100%

References

1) Drew WL. Herpesviridae: cytomegalovirus. In: Lennette EH, Halonen P, Murphy FA, editors. Laboratory diagnosis of infectious diseases: principles and practice, volume II, viral, rickettsial and chlamydial diseases. New York: Springer-Verlag, 1988: 247-60. 2) Ho M. Characteristics of cytomegalovirus. In: Greenough WB, Merigan TC, editors. Cytomegalovirus biology and infection: current topics in infectious disease. New York: Plenum, 1982: 9-32. 3) Hodinka RL, Friedman HM. Human cytomegalovirus. In: Balows A, Hausler, Jr WJ, Hermann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ. Manual of clinical microbiology, 5th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1991: 829-37. 4) Reynolds DW, et al. Laboratory diagnosis of cytomegalovirus infections. In: Lennette EH, Schmidt NJ, editors. Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infections, 5th ed. Washington: American Public Health Association, 1979: 399-439. 5) Van der Bij W, et al. Antigen test for early diagnosis of active cytomegalovirus infection in heart transplant recipients. J Heart Transplant 1988;7:106-9. 6) Zaia JA. Epidemiology and pathogenesis of cytomegalovirus disease. Seminars in Hematology 1990;27:5-10. 7) Yow MD. Congenital cytomegalovirus disease: a now problem. J Infect Dis 1989;159:163-7. 8) Miller H, et al. Prospective study of cytomegalovirus antigenemia in allograft recipients. J Clin Microbiol 1991;29:1054-5. 9) Wiedbrauk DL, Johnston SLG. Manual of clinical virology. New York: Raven Press, 1993: 82-91. 10) Baltz ML, Searcy RL. Clinical significance and advanced serologic diagnosis of ToRCH infections. Am Clin Lab 1994;March/April:18-23. 11) Tietz NW, editor. Clinical guide to laboratory tests. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1995:358.
12) Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. MMWR, 1988;37:377–82, 387–8. 13) Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3. 14) Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030.

Technical Assistance

In the United States, contact Siemens Healthcare Diagnostics Technical Services department. Tel: 877.229.3711. Outside the United States, contact your National Distributor.

siemens.com/healthcare

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

Intraassay Precision (ratio)

	Mean[1]	SD[2]	CV[3]
1	0.23	0.02	9.7%
2	0.56	0.10	18.6%
3	1.43	0.10	7.3%
4	3.54	0.16	4.5%
5	5.78	0.29	5.0%
6	10.54	0.57	5.4%
7	21.44	0.78	3.6%

Interassay Precision (ratio)

	Mean[1]	SD[2]	CV[3]
1	0.22	0.02	11.0%
2	0.59	0.09	14.6%
3	1.26	0.09	7.0%
4	3.14	0.22	6.9%
5	5.28	0.22	4.2%
6	9.82	0.55	5.6%
7	19.12	1.18	6.2%

Deutsch. **Intraassay Precision**: [1]Mittelwert, [2]SD (Standardabweichung), [3]CV (Variationskoeffizient). **Interassay Precision**: [1]Mittelwert, [2]SD (Standardabweichung), [3]CV (Variationskoeffizient).

Español. **Intraassay Precision:** [1]Media, [2]DS, [3]CV. **Interassay Precision:** [1]Media, [2]DS, [3]CV.

Français. **Intraassay Precision**: [1]Moyenne, [2]SD, [3]CV. **Interassay Precision**: [1]Moyenne, [2]SD, [3]CV.

Italiano. **intraassay Precision**: [1]Media, [2]SD (Deviazione Standard), [3]CV (Coefficiente di Variazione). **Interassay Precision**: [1]Media, [2]SD (Deviazione Standard), [3]CV (Coefficiente di Variazione).

Português. **Intraassay Precision**: [1]Média, [2]Desvio padrão, [3]Coeficiente de variação. **Interassay Precision**: [1]Média, [2]Desvio padrão, [3]Coeficiente de variação.

Deutsch

CMV IgG IMMULITE

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme — zum qualitativen Nachweis von IgG-Antikörpern gegen das Zytomegalievirus (CMV) in Humanserum und zur Ermittlung des serologischen Status zu CMV.

Artikelnummern: **L2KCVG2** (200 Tests)

Testcode: **CVG** Farbe: **braun**

Klinische Relevanz

Das CMV gehört zur Gattung der Herpesviren und ist weltweit zu finden. Eine Infektionsanfälligkeit besteht bei Menschen jeden Alters. Die Übertragung erfolgt über sexuellen Kontakt, direkten Kontakt mit infizierten Körperflüssigkeiten, Bluttransfusionen oder Organtransplantate.[1,2,5,6] Zwar bleiben die meisten Zytomegalie-Infektionen beschwerdefrei, neugeborene Kinder sowie immungeschwächte Patienten können jedoch schwer daran erkranken.[6,7] Schwere Infektionen sind auch bei Patienten mit angeborenen oder erworbenen zellulären Immundefekten – wie z.B. Krebspatienten, Organempfängern und AIDS-Patienten – möglich.[5,6,8]

Zytomegalie ist eine der häufigsten kongenitalen Infektionen und betrifft 0,5–2,5% aller neugeborenen Kleinkinder. In 5% dieser Fälle kommt es zur klassischen zytomegalen Einschlusskörperkrankheit mit Gelbsucht, Lungenentzündung und zentralnervösen Erkrankungen. Infizierte Kleinkinder sind häufig bei der Geburt beschwerdefrei, entwickeln aber im späteren Leben neurologische Syndrome.[3,4]

40–100% aller Menschen zeigen nachweisbare Antikörper,[9] wobei die Prävalenz in den Entwicklungsländern am höchsten ist.

Methodik

Der IMMULITE 2000 CMV IgG ist ein Festphasen Chemilumineszenz-, Sequenzieller immunassay.

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

Trübe oder partikelhaltige Proben sollten bei niedriger Geschwindigkeit zentrifugiert werden, bis sie klar sind.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben

von Patienten unter 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 CMV IgG sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel „Alternative Probenarten“ zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 10 µl Serum

Lagerung: 3 Tage bei 2–8°C oder 6 Monate bei –20°C.[11]

Faktor für automatische Vorverdünnung: 20

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *In-vitro*-Diagnostik.



VORSICHT! BIOLOGISCHES RISIKOMATERIAL
Enthält Material humanen Ursprungs. Alle Blutspenden oder Blutkomponenten menschlicher Herkunft wurden nach FDA-genehmigten Methoden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die HI-Viren Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2) sowie von Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und Antikörpern gegen den Hepatitis C-Virus (HCV) getestet. Die Testergebnisse waren negativ (nicht wiederholt reaktiv). Durch keinen Test kann das Vorhandensein dieser oder anderer infektiöser Stoffe vollständig ausgeschlossen werden. Dieses Material ist mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und gemäß der allgemein anerkannten guten Laborpraxis zu handhaben.[12-14]

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.

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.

Die Phase ist mit *inaktiviertem* CMV-Antigen beschichtet. Wegen des potenziellen Vorhandenseins von Restviren ist jedoch beim Arbeiten mit und Entsorgen von den im Lieferumfang enthaltenen Materialien Vorsicht geboten.

Unterschiede in der jeweiligen Methodik oder der Spezifität der Reagenzien könnten jedoch dazu führen, das die mit Testsystemen von verschiedenen Herstellern ermittelten Anti-CMV-IgG-Ergebnisse für dieselben Proben nicht einheitlich sind. Die vom Labor an den Arzt weitergegebenen Ergebnisse sollten daher den folgenden Passus enthalten: Die folgenden Ergebnisse wurden mit dem IMMULITE 2000-Testsystem zur Bestimmung von CMV-IgG erzielt. Sie sind nicht mit den Ergebnissen der Testsysteme anderer Hersteller austauschbar.“

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.

CMV IgG Kugel-Container (L2CVG12)
Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit inaktiviertem, partiell gereinigtem CMV-Antigen (Stamm

AD-169 aus infizierten Zelllysaten). Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.
L2KCVG2: 1 Container

CMV IgG Reagenzbehälter (L2CVGA2)
Mit Barcodes. Zwei Reagenzien: 11,5 ml einer Pufferlösung; 11,5 ml alkalische Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugiert mit einem murinen monoklonalen antihuman IgG-Antikörper in Pufferlösung, mit Konservierungsmittel. Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.
L2KCVG2: 1 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.

CMV IgG Kalibrator (LCVGR)
4 ml Humanserum mit CMV-reaktivem IgG in Pufferlösung (mit Konservierungsmittel). Die Justierstandard dient als Cutoff für den Assay, mit Konservierungsmittel. 14 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KCVG2: 1 Fläschchen

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

CMV IgG Kontrollen (LCVGC1, LCVGC2)
LCVGC1: Ein Fläschchen (2,0 ml) Negativ Kontrolle Humanserum mit CMV-nichtreaktivem IgG, mit Konservierungsmittel. **LCVGC2:** Ein Fläschchen (2,0 ml) Positiv Kontrolle Humanserum mit CMV-reaktivem IgG, mit Konservierungsmittel. 14 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KCVG2: 1 Set

Die IMMULITE 2000 Software führt automatische on-board-Verdünnungen der Kontrollen durch. Diese können im Qualitätsprogramm rückverfolgt werden. Geben Sie die Kontrollen als Kontrollen ein.

Die aktuellen Bereiche für das Kontrollverhältnis entnehmen Sie bitte der Packungsbeilage zur Kontrolle.

IgG/IgM Verdünnungspuffer (L2IGZ2)
Zum automatischen Verdünnen der Patientenproben und Kontrollen. 55 ml Nichthumane Protein/Puffermatrix (konzentriert, gebrauchsfertig) mit Konservierungsmittel. 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KCVG2: 1 Fläsche

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2KCVG2: 3 Etiketten

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

IgG/IgM Verdünnungspuffer (L2IGZ2)
Zum automatischen Verdünnen der Patientenproben und Kontrollen. 55 ml Nichthumane Protein/Puffermatrix (konzentriert, gebrauchsfertig) mit Konservierungsmittel. 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (portioniert).
L2IGZ2: 1 Fläsche

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2IGZ2: 5 Etiketten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: Einmal-Reaktionsgefäße
Zusätzlich erhältlich
L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm) für die Probenverdünnung
L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

LCVGCM: CMV IgG Kontrollmodul (2 Konzentrationen)

Ebenfalls benötigt:
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Röhrchen.

Testdurchführung

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

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

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
4 Wochen

Proben zur Qualitätskontrolle: Die im Kit mitgelieferten CMV Kontrollen dienen der Qualitätskontrolle zur Beurteilung der Assaydurchführung. Zu Beginn einer jeden Testreihe mit Patientenseren sowie bei jeder Rekalibrierung sollten diese Kontrollen mitgeführt werden.

Die Kontrollen sollten zu (oder nahe am) Beginn jedes Testansatzes mit Patientenproben sowie beim Neujustieren verwendet werden.

Die aktuellen Bereiche für das Kontrollverhältnis entnehmen Sie bitte der Packungsbeilage zur Kontrolle.

Ergebnisse: Zur Gewährleistung optimaler Sensitivität und Spezifität wurden repräsentative Proben zur Ermittlung des Cutoff verwendet.

Die Berechnungen werden vom IMMULITE 2000-System automatisch erstellt. Der „Cutoff“ errechnet sich aus den Durchschnitts-Messwerten des Adjustors pro Sekunde (Mittelwert cps) multipliziert mit dem Kurvenparameter P1. (Siehe auch „Schwach-positiv Adjustor cps und Kurvenparameter 1 in der IMMULITE 2000 Kitinformationssoftware, die über das Menü „Data Entry / Kit Entry“ erreicht werden kann).

Die Berechnung der Signal/Cutoff-Ratio (s/co) lässt sich durch nachfolgende Formel berechnen:

$$\text{S/CO Index} = \frac{\text{Proben o. Kontroll cps}}{\text{Mittelwert Kalibrator cps} \times \text{P1}}$$

Die Berechnung der co/s-Ratio und die Angabe qualitativer Ergebnisse (reaktiv / nicht-reaktiv /grenzwertig) erfolgt automatisch durch das IMMULITE 2000.

Ein Ergebnis für eine Probe ist „grenzwertig“, wenn die *cps* im Graubereich von ± 10% des Cutoffs liegen. Das Ergebnis ist „reaktiv“, wenn der Messwert für die betreffende Probe *darüber* dem Graubereich liegt und „nicht-reaktiv“, wenn es *unter* liegt.

Entsprechend den Richtlinien bzw. Vorschriften der zuständigen regionalen und nationalen Behörden oder zertifizierenden Stellen können weitere Kontrollen getestet werden.

Es empfiehlt sich, regelmäßige Testansätze mit bekannten reaktiven und nichtreaktiven Proben durchzuführen, um die Pipettiergenauigkeit für den Verdünnungsschritt zu gewährleisten.

Interpretation der Ergebnisse

Ein Ergebnis **„reaktiv“** (s/co Ratio of ≥ 1,1) weist darauf hin, dass CMV-IgG-Antikörper in der Patientenprobe nachgewiesen wurden.

Ein Ergebnis **„nicht-reaktiv“** (s/co Ratio < 0,9) weist darauf hin, dass CMV-IgG-Antikörper in der Patientenprobe nicht nachgewiesen wurden.

Lautet das Ergebnis **„grenzwertig“** (s/co Ratio 0,9 und < 1,1), so ist der Test zu wiederholen. Proben, die ein zweites Mal ein grenzwertiges Ergebnis bringen, sind entweder mit einer alternativen Methode zu testen, oder, sofern dies möglich ist, innerhalb eines vernünftigen Zeitraums (z.B. einer Woche) mit einer neu entnommenen zweiten Probe zu teilen.

Sind IgG-Antikörper gegen das Zytomegalievirus vorhanden, so deutet dies auf eine frühere Exposition hin. Einzelproben eignen sich ausschließlich zur Bestimmung der serologischen Status der betreffenden Person.

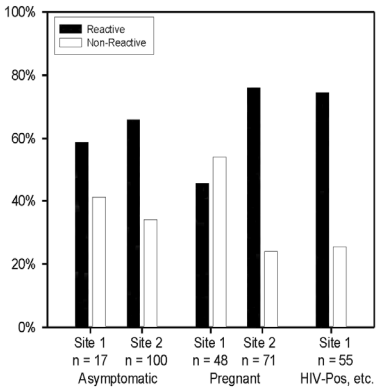
Das Ausmaß, in dem die ermittelten Ergebnisse *(cps)* den Cutoff überschreiten, sagt nichts über die Gesamtmenge der erkannten Antikörper aus.

Referenzwerte

Entsprechend seinem Verhältnis zum IMMULITE-CMV-Testsystem (siehe „Methodenvergleich“) kann im wesentlichen von denselben Referenzbereichen ausgegangen werden.

Personen im Frühstadium einer CMV-Infektion müssen nicht unbedingt nachweisbare IgG-Antikörperspiegel aufweisen. Die Konzentrationen an IgG-Antikörpern gegen das CMV steigen erstmals ein bis zwei Wochen nach der Primärinfektion an. Unauffällige gesunde Personen zeigen bei Reaktivierung des Virus keine signifikanten Veränderungen bei der Antikörperkonzentration. Bei Personen mit AIDS und anderen immunsupprimierten Patienten – z.B. Empfängern von Organtransplantaten – sind bei rezidivierenden Infektionen rasche IgG-Anstiege möglich.[3,6,9]

In den USA wurden Studien mit klinisch unauffälligen, beschwerdefreien Patienten durchgeführt. An Ort 1 im Nordwesten des Landes wurden 17 Personen (4 Frauen und 13 Männer; Alter 21–42 Jahre) arbeitsmedizinisch untersucht (bei Durchführung des Tests innerhalb von vier Tagen wurden die Proben bei 2–8°C gelagert, in allen anderen Fällen wurden sie bei –20°C eingefroren). An Ort 2 im Südwesten der USA wurden 100 Blutspender (54 Frauen und 46 Männer, Alter 17–71 Jahre) ausgewertet (Proben wurden nach der Entnahme eingefroren).



Es stellte sich heraus, dass die Prävalenz der CMV-Reaktivität in diesen beiden unterschiedlichen Gebieten der USA 59% (Ort 1) bzw. 66% (Ort 2) betrug.

Diese Studien umfassten auch 48 bzw. 71 schwangere Frauen im Alter von 18–43 bzw. 14–48 Jahren (Ort 1 bzw. Ort 2). Für diese Untergruppe betrug die Prävalenz der CMV-Reaktivität 46 bzw. 76%.

Weitere Studien wurden an Ort 1 mit insgesamt 55 entweder HIV-positiven, an AIDS erkrankten, oder aber aus anderen Gründen immungeschwächten Patienten durchgeführt. Die Prävalenz der CMV-Infektionen in dieser Gruppe war 75%.

Die obengenannten Prävalenzen für beschwerdefreie, schwangere und immungeschwächte Patienten bewegen sich in derselben Größenordnung, wie sie auch in der Literatur berichtet wird.[9] Allerdings kann die Prävalenz je nach geografischen bzw. demografischen Besonderheiten variieren.

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

Grenzen der Methode

Die Testergebnisse sind vor dem Hintergrund der klinischen Anamnese, der Beschwerden des Patienten sowie weiterer Laborbefunde zu bewerten.

Das Vorhandensein von IgG-Antikörpern in Einzelproben reicht nicht aus, um zwischen einer aktiven und einer vergangenen Infektion zu unterscheiden.

Ob eine Primärinfektion oder eine reaktivierte frühere Infektion vorliegt, sollte durch Isolierung des Virus in Zellkulturen nachgewiesen werden.[3,9]

Patienten mit Verdacht auf eine Primär- bzw. aktive Infektion sollten auf das Vorhandensein von IgM-Antikörpern gegen CMV untersucht werden.

Zur Bestimmung einer Serokonversion von *nichtreaktiv* zu *reaktiv* sollte während der Rekonvaleszenzphase drei bis vier Wochen nach der akuten nichtreaktiven Probe eine zweite Serumprobe genommen werden. Die Probe aus der Akutphase sollte gelagert und parallel zur Rekonvaleszenzprobe getestet werden.

Nachweisbare Konzentrationen an IgG-Antikörper müssen im Frühstadium einer akuten Infektion mit dem CMV nicht vorhanden sein.

Proben, die antinukleäre oder andere gegen Zellen gerichtete Antikörper enthalten, können zu falsch reaktiv Ergebnissen führen.

Aufgrund der Antigenstruktur der Herpesvirus Familie können Patienten mit Masern, Varizella-Zoster-Virus (VZV) oder Herpes-simples-Virus einen erhöhten CMV-Antikörperspiegel aufweisen. Patienten mit akuter EBV-Infektion (Epstein-Barr-Virus) können eine erhöhe Reaktivität mit anderen Viren, einschließlich CMV, aufweisen.

Die Ergebnisse bei HIV-Patienten, Patienten unter immunsuppresiver Therapie oder Patienten mit anderen Erkrankungen die zur Immunsuppression führen können, sollten mit Vorsicht interpretiert werden.

Die Eckdaten dieses Testsystems wurden nicht für den Gebrauch mit Proben von Neugeborenen, Nabelschnurblut oder Patienten mit bevorstehender Organverpflanzung etabliert.

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 Signal-Cutoff-Ratio (s/co) angegeben. (Sofern nicht anders angegeben, wurden hierfür Serumproben in Röhrchen ohne Geltrennung und Gerinnungshilfen eingesetzt.)

Intraassay-Präzision: Statisik aus einem einzelnen Testansatz mit 20 Einzelmessungen (siehe Tabelle „Intraassay-Präzision“).

Interassay-Präzision*:* Statistik aus 4 verschiedenen Testansätzen (siehe Tabelle „Interassay-Präzision“).

Alternativer Probentyp: Um die Auswirkungen von verschiedenen Probenarten zu untersuchen, wurde Blut von 20 Freiwilligen in Röhrchen ohne Additiva, in Heparin-, EDTA- und Becton Dickinson SST Vacutainer-Rörchen gesammelt. Gleiche Volumina der jeweiligen Proben wurden mit verschiedenen Konzentrationen an CMV IgG versetzt, um Werte im gesamten Kalibrationsbereich zu erhalten, und die Proben anschließend mit dem IMMULITE 2000 Assay für CMV IgG gemessen.

(EDTA) = 0,99 (Serum) + 0,03
r = 0,998

(Heparin) = 0,99 (Serum) + 0,19
r = 0,997

(SST) = 1,0 (einfachen Röhrchen) + 0,10
r = 0,997

Mittelwerte:
9,7 (Serum)
9,6 (EDTA)
9,8 (Heparin)
9,9 (SST)

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 539 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride hat in Konzentrationen bis zu 3000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Methodenvergleich: Der Assay wurde unter Verwendung von 229 Patientenproben mit IMMULITE CMV IgG verglichen.

	IMMULITE 2000		
IMMULITE	Reakt	Ind	Nicht-nreakt
Reaktiv	165	0	0
Unentschiedenen	0	0	1
Nicht-reaktiv	0	0	63

Übereinstimmung: 99,6%
Relative Sensitivität: 100%
Relative Spezifität: 100%

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

siemens.com/healthcare

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

CMV IgG

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro* usado con los analizadores IMMULITE 2000 — para la detección cualitativa de anticuerpos IgG para citomegalovirus (CMV) en suero humano, como una ayuda para la determinación del estado serológico de CMV.

Números de Catálogo:
L2KCVG2 (200 tests)

Código del Test: **CVG** Color: **Marrón**

Resumen y Explicación del Test

El citomegalovirus (CMV), un miembro de la familia de los herpesvirus, se encuentra en todo el mundo. Los seres humanos de todas las edades pueden contraer la infección, que se propaga por contacto sexual, exposición directa a fluidos corporales infectados, transfusiones sanguíneas y trasplantes de órganos[1,2,5,6]. La mayor parte de las infecciones son asintomáticas, pero las infecciones por CMV pueden ser graves en neonatos e individuos cuyo sistema inmunitario se encuentre debilitado[6,7]. La infección puede ser grave también en pacientes con defectos inmunitarios celulares congénitos o adquiridos, incluidos los pacientes con cáncer, los receptores de órganos y los pacientes con SIDA[5,6,8].

CMV es la infección congénita más común e infecta a un porcentaje de entre el 0,5 y el 2,5 de los recién nacidos. Un cinco por ciento de ellos desarrollan la enfermedad de inclusión citomegálica clásica con ictericia, neumonía y alteraciones del sistema nervioso central. Los niños infectados pueden ser asintomáticos en el momento de nacer pero pueden desarrollar problemas neurológicos a lo largo de su vida[3,4].

Entre un 40 y un 100 por ciento de las personas tienen anticuerpos detectables[9], con mayor proporción en los países en desarrollo.

Principio del análisis

IMMULITE 2000 CMV IgG es un ensayo inmunoensayo secuencial quimioluminiscente en fase sólida.

Ciclos de incubación: 2 × 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.

Las muestras que estén turbias o tengan partículas en suspensión deben clarificarse mediante una centrifugación a baja velocidad.

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

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o

anticoagulantes. El CMV IgG 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: 10 µl de suero

Conservación: 3 días a 2–8°C, o 6 meses a –20°C[11].

Factor de Predilucion automatico: 20

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.



¡PRECAUCIÓN! RIESGO BIOLÓGICO POTENCIAL
Contiene material de origen humano. Cada donación de sangre humana o componente sanguíneo ha sido probada por métodos aprobados por la FDA con el fin de detectar la presencia de anticuerpos de los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2), así como el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y el anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (VHC). Los resultados de estas pruebas fueron negativos (no repetidamente reactivos). Ninguna prueba ofrece total garantía de que en las muestras no haya estos agentes infecciosos u otros; por tanto, este material se deberá manipular conforme a las prácticas recomendables de laboratorio y las precauciones universales[12-14].

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.

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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las cañerías de cobre y plomo.

La bola está recubierta con antígeno CMV *inactivado*. Sin embargo, se recomienda tomar precauciones debido a la posible presencia de virus residuales, cuando se trabaje con el material suministrado y cuando se deseche.

La concentración de AFP en una muestra dada, determinada mediante ensayos de distintos fabricantes, puede variar debido a diferencias en los métodos de los ensayos y a la especificidad del reactivo. Por lo tanto, en el informe de resultados del laboratorio para el médico debe incluirse: "Los siguientes resultados se obtuvieron con EIA IgG CMV IMMULITE 2000. No es posible intercambiar los resultados obtenidos por métodos de ensayo de otros fabricantes".

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

Agua: Use 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 CMV IgG (L2CVG12)
Con códigos de barras. 200 bolas, recubierta de antígeno CMV inactivado, parcialmente purificado (cepa AD-169 de lisados de células infectadas). Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KCVG2: 1 cartucho

Vial de reactivo de CMV IgG (L2CVGA2)
Con códigos de barras. Dos reactivos: 11,5 ml de una solución tampón; 11,5 ml Fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con anticuerpo monoclonal murino anti-IgG humana en solución tampón, con conservante. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KCVG2: 1 vial

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.

Ajustador de CMV IgG (LCVGR)
4 ml de suero humano con IgG reactiva a CMV, en solución tampón, con conservante. El ajustador sirve como valor de corte del ensayo. Estable a 2–8°C durante 14 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KCVG2: 1 vial

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.

Controles de CMV IgG (LCVGC1, LCVGC2)
LCVGC1: un vial (2,0 ml) Negativo Control suero humano con IgG no reactiva a CMV, con conservante. **LCVGC2:** un vial (2,0 ml) Positivo Control suero humano con IgG reactiva a CMV, con conservante. Estable a 2–8°C durante 14 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KCVG2: 1 juego

El software del IMMULITE 2000 realiza una dilución automática en el instrumento de las muestras de los controles, y los resultados serán mostrados en la base de datos del control de calidad. Introduzca los controles como controles en la Lista de trabajo.

Para los intervalos control actuales, por favor consulte el prospecto del Control.

Diluyente de IgG/IgM (L2IGZ2)
Para la dilución de las muestras del paciente y controles que van a analizarse. 55 ml Matriz proteica no humana en solución tampón concentrado (listo para usarse), con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KCVG2: 1 vial

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 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2KCVG2: 3 etiquetas

Componentes del kit que se suministran por separado

Diluyente de IgG/IgM (L2IGZ2)
Para la dilución de las muestras del paciente y controles que van a analizarse. 55 ml Matriz proteica no humana en solución tampón concentrado (listo para usarse), con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2IGZ2: 1 vial

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 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2IGZ2: 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 × 100 mm)
L2ZC: 250 Casquillos Del Tubo Del Diluyente De la Muestra

LCVGCM: Módulo Control de CMV IgG de dos niveles

También necesario
Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo

Ensayo

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

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:
4 semanas

Muestras de Control de Calidad: Los controles IgG CMV que se suministran con el kit deben utilizarse como material de control de calidad, para controlar el rendimiento en el intervalo del valor de corte. El Control positivo se utiliza para

validar el ensayo IMMULITE 2000 CMV IgG en un nivel crítico, cuando se determina el estado serológico de un paciente.

Los controles deberán procesarse al comienzo (o cerca) de cada ciclo de análisis que contenga muestras de pacientes y también al realizar reajustes.

Para los intervalos control actuales, por favor consulte el prospecto del Control.

Calculo de Cutoff y Ratio S/CO: El punto de corte (Cutoff) Master del ensayo fue determinado con muestras representativas que mostraron una óptima sensibilidad y especificidad para el ensayo.

El cutoff es obtenida de la media de las cuentas por segundo (media de cps) del ajustador bajo (del ajuste mas reciente) multiplicada por el parametro 1 de la curva. (Ver “Low Adjustor CPS” and “Curve Parameter 1” dentro de la pantalla de Información del Kit a la cual se entra a traves del menú del IMMULITE 2000 via Data Entry: Kit Entry.)

El cálculo del ratio señal/cutoff (s/co) se realiza utilizando la formula siguiente:

$$\text{S/CO Ratio} = \frac{\text{Muestra o Control cps}}{\text{Media cps Adjustador} \times \text{P1}}$$

Calculo e informe del resultado (reactivo / no reactivo / indeterminado) y ratio s/co son obtenidos automaticamente por el IMMULITE 2000.

El resultado para una muestra es informado como “Indeterminado” si las cuentas por segundo para la muestra entran dentro del ±10% del cutoff. El resultado es informado como “Reactivo” si las cuentas de la muestra están sobre este rango indeterminado, y “No reactivo” si están por debajo del rango.

Pueden analizarse otros controles según las directrices o requisitos de las normas locales, estatales o federales o de las organizaciones acreditadas.

También se recomienda analizar periódicamente muestras conocidas, reactivas o no reactivas, para asegurar la precisión del pipeteado para el paso de dilución.

Interpretación de los resultados

Un resultado **"Reactivo"** (ratio de ≥ 1,1) indica que los anticuerpos IgG frente a CMV han sido detectados en la muestra del paciente.

Un resultado de **"No reactivo"** (ratio de < 0,9) indica que los anticuepos IgG frente a CMV IgG no han sido detectados en la muestra del paciente.

Debe repetirse la prueba para cualquier resultado "**Indeterminado**" (ratio s/co entre 0,9 y < 1,1). Las muestras cuyos resultados siguen siendo "Indeterminados" deben continuar analizándose por un método diferente, o bien debe tomarse una segunda muestra, si es posible, dentro de un periodo de tiempo razonable (por ejemplo, una semana).

La presencia de anticuerpos IgG para CMV indica una exposición previa al virus. Una sola muestra sólo puede utilizarse para determinar el estado serológico del individuo.

La magnitud de los resultados medidos (cps) por encima del valor de corte no es indicativa de la cantidad total de anticuerpos detectados.

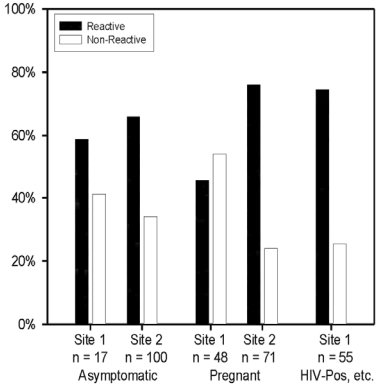
Valores Esperados

Basados en su relación, IMMULITE CMV IgG (vea Método de Comparación), se espera que el ensayo tenga en términos generales los mismos intervalos de referencia.

Los individuos con CMV pueden no exhibir niveles detectables de anticuerpos IgG en las primeras etapas de la infección. Los niveles de anticuerpos IgG para CMV empiezan a elevarse una a dos semanas después de la primera infección. Los individuos normales, sanos, no tendrán cambios significativos de su nivel de anticuerpos con reactivación del virus. Los pacientes con SIDA y otros individuos inmunosuprimidos, por ejemplo, los receptores de órganos trasplantados, pueden tener rápidos aumentos de los niveles de IgG con infecciones recurrentes[3,6,9].

Se realizaron estudios con sujetos que se asumían sanos, asintomáticos, en dos localidades de EE.UU. En una localidad

(Sitio 1) del noroeste de EE.UU., los sujetos fueron 17 individuos que se sometían a un examen médico previo a su empleo (4 mujeres y 13 hombres), con edades que iban de los 21 a los 42 años (las muestras se almacenaron a 2–8°C si el ensayo se realizó en menos de 4 días; de lo contrario, en el resto de los casos las muestras se congelaron a –20°C. En una segunda localidad del suroeste de EE.UU., los sujetos fueron 100 donantes de sangre (54 mujeres y 46 hombres), con edades comprendidas entre 17 y 71 años (las muestras recogidas se congelaron).



La frecuencia de la reacción CMV fue del 59% (Sitio 1) y del 66% (Sitio 2) en estas dos diferentes ubicaciones geográficas de los Estados Unidos.

Estos sitios de estudio incluyeron también 48 (Sitio 1) y 71 (Sitio 2) mujeres gestantes, con edades comprendidas entre 18 y 43 años (Sitio 1) y 14 y 48 años (Sitio 2). La frecuencia de la reactividad a CMV para esta población específica en estos dos sitios fue del 46% y 76%, respectivamente.

En el Sitio 1se llevaron a cabo estudios con un total de 55 pacientes que eran HIV positivos, padecían SIDA o estaban inmunosuprimidos por otras razones. La frecuencia de infecciones CMV en este grupo fue del 75%.

Las frecuencias antes mencionadas para sujetos asintomáticos, gestantes e inmunosuprimidos son similares a las que describe la literatura[9]. Sin embargo, la frecuencia puede variar debido a causas geográficas o poblacionales.

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

Limitaciones

Los resultados del análisis deben contemplarse en el contexto del historial clínico de los pacientes, de su sintomatología y de los demás hallazgos del laboratorio.

La presencia de anticuerpos IgG en una sola muestra no es suficiente para distinguir entre una infección activa y una antigua.

La presencia de una infección primaria o la reactivación de una antigua debe determinarse aislando el virus en un cultivo de tejido[3,9].

Los pacientes de los que se sospeche que padecen una infección primaria o activa deben analizarse para detectar la presencia de anticuerpos IgM para CMV.

Para la determinación de la seroconversión de *no reactivo* a *reactivo*, debe tomarse una segunda muestra de suero tres o cuatro semanas después de la muestra recogida en la fase aguda, no reactiva, durante la etapa de convalecencia de la infección. La muestra de la fase aguda debe almacenarse y analizarse en paralelo con la muestra de convalecencia.

Los individuos con infección CMV aguda pueden no exhibir anticuerpos IgG detectables en las primeras etapas de la infección.

Las muestras que contengan anticuerpos antinucleares u otros anticuerpos anticélula pueden arrojar resultados de falsos reactivo.

También puede darse una elevación del nivel de anticuerpos CMV en pacientes con sarampión, virus varicela-zoster (VZV) o virus herpes simplex (HSV), debido a la reacción cruzada antigénica dentro de la familia herpesvirus. Los pacientes con infección EBV (virus Epstein-Barr) aguda pueden mostrar una reactividad elevada frente a otros virus, incluyendo el CMV.

Los resultados en pacientes con HIV, en pacientes bajo terapia inmunosupresora, o en pacientes con otras enfermedades

que conlleven inmunosupresión, deben ser interpretados con precaución.

Las características de rendimiento de este ensayo no se han establecido para su uso con muestras de recién nacidos, sangre del cordón umbilical o pacientes pretrasplantados.

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

Características Analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo ver las tablas y los gráficos. Los resultados se expresaron como una relación señal(cps)/valor de corte. (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.)

Precisión intraensayo (dentro de una tanda): Se han calculado datos estadísticos para las muestras a partir de los resultados de 20 replicados en una sola tanda. (Ver la tabla "Precisión intraensayo".)

Precisión entre ensayos (de una tanda a otra): Se han calculado datos estadísticos para las muestras analizadas en 4 tomas distintas. (Ver la tabla "Precisión entre ensayos".)

Tipo de Muestra Alternativa: para evaluar el efecto de los diferentes tipos de muestras alternativos, se recogió sangre de 20 voluntarios en tubos normales, tubos con Heparina, tubos con EDTA y tubos vacutainer SST de Becton Dickinson. Volúmenes iguales de las diferentes muestras fueron sobrecargadas con diferentes concentraciones de CMV IgG, con la finalidad de cubrir todo el rango de calibración del ensayo, y procesadas con el procedimiento CMV IgG IMMULITE 2000.

(EDTA) = 0,99 (Suero) + 0,03
r = 0,998

(Heparina) = 0,99 (Suero) + 0,19
r = 0,997

(SST) = 1,0 (tubos simples) + 0,10
r = 0,997

Medias:
9,7 (Suero)
9,6 (EDTA)
9,8 (Heparina)
9,9 (SST)

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 539 mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Lipemia: La presencia de triglicéridos en concentraciones hasta 3000 mg/dl no tiene efecto alguno en los resultados, en lo correspondiente a la precisión del ensayo.

Comparación de los métodos: El ensayo se ha comparado con el IMMULITE CMV IgG en 229 muestras de pacientes.

	IMMULITE 2000		
IMMULITE	React	Ind	No react
Reactivo	165	0	0
Indeterminado.	0	0	1
No reactivo	0	0	63

Concordancia: 99,6%
Sensibilidad relativa: 100%
Especificidad relativaa: 100%

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

siemens.com/healthcare

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

CMV IgG

Domaine d'utilisation : Dosage qualitatif des IgG anti-cytomégalovirus (CMV) dans le sérum humain. Réservé à un usage diagnostique *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000, ce test constitue une aide pour la détermination du statut sérologique vis-à-vis du CMV.

Référence catalogue:
L2KCVG2 (200 tests)

Code produit : **CVG**
Code couleur : **marron**

Introduction

Le cytomégalovirus (CMV), un membre de la famille des herpèsvirus, est un virus ubiquiste. Des individus de tout âge sont susceptibles d'être infectés par contact sexuel, exposition direct à des liquides organiques contaminés, transfusion sanguine ou transplantation d'organe.[1,2,5,6] La majorité des infections sont asymptomatiques ; cependant, les infections à CMV peuvent être graves chez les nouveaux nés et les sujets immunodéprimés. L'infection peut également être grave en cas de déficit immunitaire congénital ou acquis, comme c'est le cas pour les patients cancéreux, les transplantés ou les malades du SIDA.[5,6,8]

L'infection à CMV est l'une des infections congénitales les plus fréquentes, touchant entre 0,5 et 2,5% des nouveaux nés. 5% de ces derniers développeront une maladie classique d'inclusion cytomégalique, avec jaunisse, pneumonie et atteinte du système nerveux central. Les nourrissons infectés peuvent être asymptomatiques à la naissance, mais connaîtrent plus tard des désordres neurologiques.[3,4]

Entre 40 et 100% des individus ont des anticorps anti-CMV détectables,[9] avec la prévalence la plus élevée pour les pays en voie de développement.

Principe du test

Le test IMMULITE 2000 CMV IgG est un dosage immunodosage séquentiel chimiluminescent 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.

Les échantillons troubles ou présentant des particules en suspension devront être clarifiés par centrifugation à faible vitesse.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dûs 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 CMV IgG 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 : 10 µl de sérum

Conservation : 3 jours à 2–8°C ou 6 mois à –20°C.[11]

Facteur de predilution automatique : 20

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.



AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL
Contient du matériel d'origine humaine. Chaque don de sang ou de composant sanguin humain a été testé selon des méthodes homologuées par la FDA afin de détecter la présence d'anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2), ainsi que la présence d'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) et d'anticorps anti-virus de l'hépatite C (VHC). Les résultats de ces tests se sont révélés négatifs (ou positifs mais de façon non répétable). Aucun test ne peut garantir totalement l'absence d'agents infectieux tels que ceux-ci ou d'autres. Par conséquent, ce matériel doit être manipulé conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux précautions universelles.[12-14]

AVERTISSEMENT : Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.

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

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

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

La bille est revêtue d'antigène CMV *inactivé*. Cependant, des particules virales actives ayant pu subsister, la prudence est recommandée lors de la manipulation ou de l'élimination de ces produits.

Les mesures d'IgG anti-CMV réalisées sur un échantillon donné, avec les tests de différents fabricants, pourront présenter une disparité en raison des différences intrinsèques des procédés de dosage et de la spécificité des réactifs. Par conséquent, les résultats communiqués au médecin par le laboratoire devront comporter la mention suivante : « Les résultats suivant ont été obtenus avec le dosage immuno-enzymatique IgG CMV IMMULITE 2000. Les résultats obtenus avec des procédés de dosage d'autres fabricants ne doivent pas y être substitués. »

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 CMV IgG (L2CVG12)
Avec code-barres. 200 billes revêtue d'antigène CMV inactivé, partiellement purifié (souche AD-169 de lysats de cellules infectées). Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KCVG2 : 1 cartouche

Cartouche à réactif CMV IgG (L2CVGA2)
Avec code-barre. Deux réactifs: 11,5 ml de solution tamponnée; 11,5 ml tampon phosphatase alcaline d'intestins de veau conjuguée à un anticorps murin anti-IgG humaine, avec conservateur. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KCVG2 : 1 cartouche

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.

Ajusteur CMV IgG (LCVGR)
4 ml contenant sérum humain tamponné contenant des IgG, réactif vis-à-vis du CMV, avec conservateur. L'ajusteur fait office de point limite pour le test. Stable à 2–8°C pendant 14 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KCVG2 : 1 flacon

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

Contrôles CMV IgG (LCVGC1, LCVGC2)
LCVGC1 : Un flacon (2,0 ml) Négatif Contrôle sérum humain contenant des IgG non-réactif vis-à-vis du CMV, avec conservateur. **LCVGC2 :** Un flacon (2,0 ml) Positif Contrôle sérum humain contenant des IgG réactif vis-à-vis du CMV, avec conservateur. Stable à 2–8°C pendant 14 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KCVG2 : 1 jeu

Le logiciel de l' IMMULITE 2000 réalise automatiquement les dilutions à bord des échantillons de contrôles, les résultats sont alors importés dans la base de données QC. Entrer les contrôles (comme des contrôles).

Pour connaître la valeur de ratio contrôle actuelle, veuillez vous reporter à la notice d'emploi du contrôle.

Diluant échantillon IgG/IgM (L2IGZ2)
Pour la dilution par l'appareil des échantillons cliniques et des contrôles. 55 ml Concentré prêt à l'emploi, matrice tampon/protéines non-humaines avec conservateur. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KCVG2 : 1 flacon

Les étiquttes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 × 100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2KCVG2 : 3 étiquettes

Composants du coffret fournis séparément

Diluant échantillon IgG/IgM (L2IGZ2)
Pour la dilution par l'appareil des échantillons cliniques et des contrôles. 55 ml Concentré prêt à l'emploi, matrice tampon/protéines non-humaines avec conservateur. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2IGZ2 : 1 flacon

Les étiquttes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 × 100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2IGZ2 : 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 × 100 mm)
L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

LCVGCM: Contrôle CMV IgG à deux niveaux

Egalement requis
Eau distillée ou désionisée ; tubes en verre

Protocole de dosage

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

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

Intervalle d'ajustement recommandé :
4 semaines

Echantillons pour le contrôle de qualité :
Les contrôle IgG CMV fournis avec le coffret doivent être utilisés comme contrôle de qualité, pour assurer le suivi des performances du dosage au niveau des seuils discriminants. Le contrôle positif est utilisé pour valider le dosage

IgG CMV à un niveau critique lors de la détermination du statut sérologique d'un patient.

Les Contrôle doivent être dosés au début (ou presque) de chaque série d'échantillons, ainsi qu'au cours d'un réajustement.

Pour connaître la valeur de ratio contrôle actuelle, veuillez vous reporter à la notice d'emploi du contrôle.

Calcul du seuil et du ratio S/CO : Le seuil du dosage est déterminé avec des échantillons représentatifs afin d'obtenir la sensibilité et la spécificité optimales pour le dosage.

Le seuil est défini comme le nombre moyen de coups par seconde (cps) de l'ajusteur (provenant de l'ajustement le plus récent) multiplié par le Paramètre n° 1. (Voir les champs « CPS Ajusteur bas » et « Paramètre 1 » de l'écran Coffrets sur l'IMMULITE 2000.)

Le calcul du rapport Signal/Seuil utilise l'équation suivante :

$$\text{Rapport (S/CO)} = \frac{\text{cps Echantillon ou Contrôle}}{\text{cps moyen Ajusteur} \times \text{P1}}$$

Le calcul et l'édition des résultats qualitatifs (réactif / non-réactif / indéterminé) ainsi que le ratio s/co sont automatiquement calculés par l'IMMULITE 2000.

Le résultat d'un échantillon est « indéterminé » si le nombre de coups par seconde pour cet échantillon se situe à ±10% du seuil. Le résultat est « réactif » si le nombre de coups par seconde est supérieur à l'intervalle « indéterminé » et il est « non-réactif » s'il est inférieur à cet intervalle.

Des contrôle supplémentaires pourront être testés, conformément aux recommandations ou aux directives des autorités locales ou nationales.

Il est également recommandé de tester périodiquement des échantillons réactifs ou non-réactifs avérés, pour contrôler l'exactitude du pipetage lors de l'étape de dilution.

Interprétation des résultats

Un résultat **« Réactif »** (ratio ≥ 1,1) indique que des anticorps CMV IgG ont été détectés dans le sérum du patient.

Un résultat **« Non-réactif »** (ratio < 0,9) indique qu'aucun anticorps CMV IgG n'a été détecté dans le sérum du patient.

Tout échantillon « **indéterminé** » (rapport seuil/signal entre 0,9 et < 1,1) devra faire l'objet d'un nouveau test. Les échantillons qui demeureraient « indéterminés » devront être testés par une autre méthode, ou un autre prélèvement devra être effectué – si possible – dans un délai raisonnable (une semaine, par exemple).

La présence d'IgG anti-CMV témoigne d'une exposition antérieure au virus. Un échantillon unique ne peut servir qu'à déterminer le statut sérologique de l'individu.

L'amplitude de la réponse mesurée (en cps) au delà du seuil discriminant n'est pas corrélative de la quantité d'anticorps détectée.

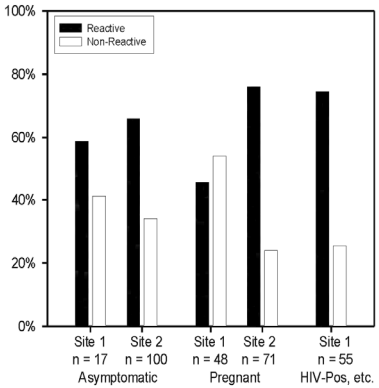
Valeurs de référence

Compte tenu de sa parenté avec le dosage CMV IMMULITE (voir « Comparaison de méthodes »), le dosage devrait probablement avoir les mêmes valeurs de référence.

Il est possible que les IgG anti-CMV ne soient pas détectables au cours des stades précoces de l'infection. Les taux d'IgG anti-CMV commencent à croître dans les 1 à 2 semaines suivant la primo-infection. Chez des individus sains et en bonne santé, ce titre d'anticorps ne connaîtra pas de variation significative lors de la réactivation du virus. Les malades du SIDA ou d'autres sujets immunodéprimés – les transplantés, par exemple – pourront connaître de rapides élévations de leurs taux d'IgG au cours d'infections renouvelées.[3,6,9]

Des études portant sur des sujets asymptomatiques, en bonne santé apparente, ont été menées par deux centres investigateurs différents aux États-Unis. Les sujets du premier groupe (site 1, au nord-ouest des États-Unis) étaient 17 individus (4 femmes et 13 hommes), âgés de 21 à 42 ans, se soumettant à des tests de dépistage de pré-embauche ; les

échantillons étaient conservés à 2–8°C quand le test était réalisé dans les 4 jours ou congelés à –20°C. Les sujets du deuxième groupe (site 2, au sud-ouest des États-Unis) étaient 100 donneurs de sang (54 femmes et 46 hommes), âgés de 17 à 71 ans ; les échantillons recueillis étaient congelés.



La prévalence de la séropositivité pour le CMV s'est avérée être de 59% (site 1) et de 66% (site 2) dans ces deux localisations géographiques distinctes des États-Unis.

Ces centres investigateurs avaient également enrôlé 48 (site 1) et 71 (site 2) femmes enceintes, âgées de 18 à 43 ans (site 1), et de 14 à 48 ans (site 2). La prévalence de la séropositivité pour le CMV y a été établie à 46 et 76%, respectivement.

Des études complémentaires ont été menées au site 1, sur un total de 55 patients séropositifs, malades du SIDA ou immunodéprimés pour d'autres raisons. La prévalence de la séropositivité pour le CMV était de 75% dans ce groupe.

Les valeurs de prévalence rapportées plus haut pour les individus asymptomatiques, les femmes enceintes et les sujets immunodéprimés sont similaires à celles données par la littérature.[9] Cependant, la prévalence pourra présenter une variabilité due à des spécificités géographiques ou à des particularités des populations.

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

Limites

Le résultats doivent impérativement être interprétés dans le contexte de l'histoire clinique du patient, de la symptomatologie et d'autres données de laboratoire.

La mise en évidence d'IgG dans un échantillon unique ne permet pas de distinguer une infection active d'une infection antérieure.

Une primo-infection ou la réactivation d'une infection antérieure devront être mises en évidence par isolement du virus à partir d'une culture tissulaire.[3,9]

Des patients suspects de primo-infection ou d'infection active devront faire l'objet d'un test de dépistage d'IgM anti-CMV.

Un second prélèvement devra être réalisé pendant la phase de convalescence de l'infection – 3 à 4 semaines après le premier prélèvement non-réactif de phase aiguë – pour mettre en évidence une séroconversion non-réactif/ réactif. L'échantillon de phase aiguë devra être conservé et testé en parallèle de l'échantillon de convalescence.

Il est possible que les IgG anti-CMV ne soient pas détectables dans la phase précoce d'une infection aiguë à CMV.

Des échantillons contenant des anticorps anti-nucléaires ou d'autres anticorps anti-cellulaires pourront donner de faux réactif.

Une élévation du titre d'anticorps anti-CMV peut être observée chez des patients ayant contracté la rougeole, le virus varicelle-zona (VZV) ou l'herpès (HSV), en raison d'une réactivité croisée au sein de la famille des herpèsvirus. Les patients présentant une infection aiguë à EBV (virus Epstein-Barr) sont susceptibles de montrer une réactivité accrue pour d'autres virus, dont le CMV.

Les résultats de patients atteints par le virus HIV, sous traitement immunosuppresseur ou sujets à tout autre désordre entraînant une immunosuppression, doivent être interprétés avec précaution.

Les performances de ce dosage ne sont pas connues pour des échantillons provenant de sang de cordon, de nouveaux nés ou de pré-transplantés.

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 sous forme d'un ratio signal/seuil discriminant valant. (En l'absence de précision supplémentaire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques prélevés sur tubes sans anticoagulant, ni gel, ni activateur de la coagulation.)

Précision intra-dosage (au sein d'une même série) : les statistiques ont été réalisées sur les résultats de 20 replicata d'échantillons dosés au cours d'une même série. (Voir le tableau « Intraassay Precision ».)

Précision inter-dosage (entre plusieurs séries) : les statistiques ont été réalisées sur des échantillons dosés dans 4 séries différentes. (Voir le tableau « Interassay Precision ».)

Autres types d'échantillons : pour estimer l'effet de l'utilisation de différents type d'échantillons, 20 volontaires ont été prélevés sur tubes secs, héparinés, EDTA et sur tubes vacutainer SST Becton Dickinson. Des volumes égaux de ces différents échantillons ont été mélangés avec plusieurs concentrations d' CMV IgG pour obtenir des valeurs à l'intérieur du domaine de mesure du test puis dosés avec le protocole l'IMMULITE 2000 CMV IgG.

(EDTA) = 0,99 (Sérum) + 0,03
r = 0,998

(Hépariné) = 0,99 (Sérum) + 0,19
r = 0,997

(SST) = 1,0 (tubes ordinaires) + 0,10
r = 0,997

Moyennes :
9,7 (Sérum)
9,6 (EDTA)
9,8 (Hépariné)
9,9 (SST)

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 539 mg/dl.

Lipémie : la présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 3000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

Comparaison de méthodes : le test a été comparé au test IMMULITE CMV IgG sur 229 échantillons.

	IMMULITE 2000		
IMMULITE	Réact	Ind	Non-réactif
Réactif	165	0	0
Indéterminé	0	0	1
Non-réactif	0	0	63

Concordance : 99,6%
Sensibilité relative: 100%
Spécificité relative: 100%

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

siemens.com/healthcare

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

Italiano

CMV IgG

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE 2000 — per la determinazione qualitativa degli anticorpi IgG Anti-citomegalovirus (CMV) nel siero umano, quale ausilio nella determinazione dello stato sierologico verso il CMV.

Codice: **L2KCVG2** (200 test)

Codice del Test: **CVG** Colore: **marrone**

Riassunto e Spiegazione del Test

Il Citomegalovirus (CMV), rientra all'interno della famiglia degli Herpes virus ed ha diffusione mondiale. Gli esseri umani di tutte le età sono suscettibili e l'infezione si diffonde attraverso rapporti sessuali, esposizione diretta ai fluidi corporei infetti, trasfusioni di sangue, ed trapianti di organi.[1,2,5,6] La maggior parte delle infezioni sono asintomatiche; comunque, le infezioni da CMV possono essere gravi nei neonati e negli individui immunocompromessi.[6,7] L'infezione può essere grave anche in pazienti con difetti immunocellulari congeniti o acquisiti, inclusi pazienti affetti da cancro, pazienti trapiantati ed affetti da AIDS.[5,6,8]

Il CMV è l'infezione congenita più comune, infettando tra lo 0,5 ed il 2,5% dei neonati. Il cinque percento di questi sviluperanno la classica malattia citomegalica con itterizia, polmonite e malattie del sistema nervoso centrale. I neonati infetti possono essere asintomatici alla nascita, ma possono sviluppare in seguito problemi neurologici.[3,4]

Tra il 40% ed il 100% delle persone presentano anticorpi rilevabili,[9] con un tasso più elevato nei paesi in via di sviluppo.

Principio del Procedimento

Il dosaggio IMMULITE 2000 CMV IgG è un dosaggio immunoprova sequenziale chemiluminescente in fase solida.

Cicli d'incubazione: 2 × 30 minuti

Raccolta del Campione

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

Campioni emolizzati possono indicare un trattamento non idoneo del campione prima dell'arrivo nel laboratorio; quindi i risultati devono essere interpretati con prudenza.

I campioni che sono opaci o che hanno materiali particolati devono essere chiarificati da centrifuga a bassa velocità.

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 CMV IgG non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume richiesto: 10 µL di siero

Conservazione: 3 giorni a 2–8°C o 6 mesi a –20°C.[11]

Fattore Automatico di Pre-Diluizione: 20

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.



ATTENZIONE! POTENZIALE PERICOLO BIOLOGICO
Contiene materiale di origine umana. Ciascuna donazione di sangue o componenti ematici umani è stata testata con metodi approvati dalla FDA per rilevare la presenza di anticorpi al virus dell'immunodeficienza umana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2), nonché per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e gli anticorpi al virus dell'epatite C (HCV). I risultati del test sono stati negativi (non ripetutamente reattivi). Nessun test offre

assicurazione completa che questi o altri agenti infettivi siano assenti; questo materiale va trattato utilizzando le corrette prassi di laboratorio e le precauzioni universali.[12-14]

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale portatore e trasmettitore di agenti patogeni.

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

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

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

La sferetta è coattata con antigene CMV *inattivato*. Comunque, è consigliabile essere prudenti a causa dell'eventuale presenza del virus durante l'esecuzione del dosaggio e l'eliminazione dei rifiuti.

I risultati anti-CMV IgG in un dato campione ottenuti con dosaggi di diversi produttori possono variare a causa delle differenze nelle procedure utilizzate e nella specificità dei reagenti. I risultati forniti dal laboratorio al medico devono includere quanto segue: “I risultati seguenti sono stati ottenuti con il dosaggio IMMULITE 2000 CMV IgG EIA. I valori ottenuti con dosaggi diversi non possono essere interscambiati”.

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

Acqua: Utilizzare 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 CMV IgG (L2CVG12)
Con codice a barre. 200 biglie coattate con antigene CMV disattivato e parzialmente purificato (AD-169 da lisati di cellule infette). Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KCVG2: 1 confezione

Porta Reagente CMV IgG (L2CVGA2)
Con codice a barre. Due reagente:
11,5 mL di una soluzione/tampon;
11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con un anticorpo monoclonale murino anti-IgG umane in un tampone, con conservanti. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KCVG2: 1 porta reagente

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 CMV IgG (LCVGR)
4 mL di siero umano con IgG reattive anti-CMV, in un tampone, con conservanti. Il regolatore serve dal punto di taglio della prova. Stabile a 2–8°C per 14 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KCVG2: 1 flacone

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

Controlli CMV IgG (LCVGC1, LCVGC2)
LCVGC1: Una fiala (2,0 mL) Controllo Negativo di siero umano con IgG non reattive al CMV con conservanti.
LCVGC2: Una fiala (2,0 mL) Controllo Positivo di siero umano con IgG reattive anti-CMV con conservanti. Stabile a 2–8°C per 14 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KCVG2: 1 set

Il software IMMULITE 2000 effettua diluizioni automatiche interne dei campioni e dei controlli, e i risultati vengono inseriti nel database CQ. Inserire i controlli come controlli.

Per le gamme attuali del rapporto di controllo, fare riferimento all'inserimento informativo del controllo.

Diluente dell'IgG/IgM (L2IGZ2)
Per la diluzione sul luogo dei campioni dei pazienti e dei controlli. 55 mL Concentrato pronto all'uso, una matrice proteina non umana/tampone con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura o a –20°C per 6 mesi (aliquotato).
L2KCVG2: 1 flaconi

Vengono Fornite Le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm cosicchè i codici a barre possano essere letti dal lettore interno.
L2KCVG2: 3 etichette

Componenti del Kit Forniti Separatamente

Diluente IgG/IgM per Campioni (L2IGZ2)
Per la diluzione interna dei campioni e dei controlli. 55 mL Una matrice tampone/proteica concentrata (pronta all'uso), con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura o a –20°C per 6 mesi (aliquotato).
L2IGZ2: 1 flaconi

Vengono Fornite Le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm cosicchè i codici a barre possano essere letti dal lettore interno.
L2IGZ2: 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 × 100 mm) per Diluente del Campione
L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluente del Campione

LCVGCM: Modulo di Controllo CMV IgG Bi-livello

Materiali richiesti
Acqua distillata o deionizzata; provette di vetro

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 4 settimane

Campioni per il Controllo di Qualità: I controlli CMV IgG forniti con il kit dovrebbero essere utilizzati come materiale per il controllo di qualità per controllare le prestazioni del dosaggio al valore di cutoff. Il controllo positivo viene utilizzato per convalidare il dosaggio IMMULITE 2000 CMV IgG ad un livello critico nella determinazione dello stato sierologico dei pazienti.

I controlli devono essere processati all'inizio (o vicino all'inizio) di ogni esecuzione che contiene campioni dei pazienti, ed anche durante la ripetizione della regolazione.

Per le gamme attuali del rapporto di controllo, fare riferimento all'inserimento informativo del controllo.

Calcolo del Cutoff e Rapporto S/CO:
Il Cutoff del dosaggio è stato determinato da campioni rappresentativi per raggiungere una sensibilità ed una specificità ottimali per il dosaggio.

Il cutoff viene stabilito uguale alle conte medie per secondo (cps medio) del calibratore (dalla calibrazione più recente), moltiplicato per il Parametro 1 della Curva (Vedere i campi "CPS del calibratore basso" e "Il Parametro 1 della Curva" sullo schermo dell'IMMULITE 2000 accessibile dal menu attraverso Data Entry: Kit Entry [Immissione dati: immissione kit]).

Il calcolo del rapporto segnale/cutoff (s/co) è effettuato utilizzando la seguente formula:

$$\text{Rapporto S/CO} = \frac{\text{Cps Campione o Controllo}}{\text{Cps Calibratore Medio} \times \text{P1}}$$

Il calcolo ed il report dei risultati qualitativi (reattivo / non reattivo / indeterminato) e del rapporto co/s vengono gestiti automaticamente dall'IMMULITE 2000.

Il risultato per un campione è “indeterminato” se i cps del campione rientrano entro ±10% del valore di cutoff. Il risultato è “reattivo” se i cps del campione sono superiori al range indeterminato, e “non reattivo” se sono inferiori al range.

Altri controlli possono essere testati in conformità alle linee guida o alle regolamentazioni locali, statali e/o federali o delle organizzazioni accreditanti.

Si consiglia di testare i campioni reattivi e non reattivi ogni tanto per assicurare l'accuratezza della dispensazione nella fase di diluizione.

Interpretazione dei Risultati

Un risultato **"Reattivo"** (rapporto ≥ 1,1) indica che sono stati rilevati nel campione del paziente anticorpi IgG anti-CMV.

Un risultato **"Non reattivo"** (rapporto < 0,9) indica che non sono stati rilevati nel campione del paziente anticorpi IgG anti-CMV.

Un risultato **"Indeterminato"** (rapporto s/co tra 0,9 e < 1,1) deve essere ritestato. I campioni che producono di nuovo un risultato “indeterminato” devono essere ridosati con un metodo alternativo, o deve essere prelevato un secondo campione– se possibile – entro un periodo ragionevole (p.e. una settimana).

La presenza di anticorpi IgG anti-CMV è un'indicazione dell'esposizione precedente al virus. Un campione individuale può essere utilizzato soltanto per determinare lo stato sierologico del paziente.

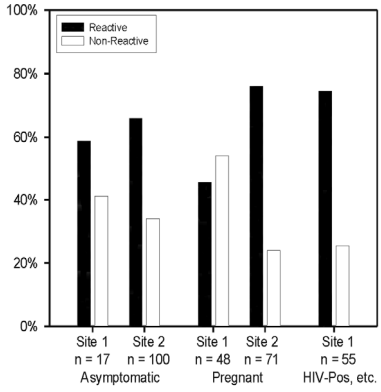
La grandezza dei risultati misurati (cps) superiori al valore di cutoff non è indicativa della quantità totale di anticorpi rilevati.

Valori Attesi

In base alla sua relazione con il dosaggio IMMULITE CMV IgG (vedere Comparazione dei metodi), si può prevedere che il dosaggio abbia essenzialmente gli stessi range di riferimento.

E' possibile che individui affetti da CMV non mostrino livelli rilevabili di anticorpi IgG nelle prime fasi dell'infezione. I livelli di anticorpi IgG cominciano ad aumentare una o due settimane dopo l'infezione iniziale. Individui normali e sani non subiranno cambiamenti significativi nel livello anticorpale con la riattivazione del virus. Pazienti affetti da AIDS o altri individui immunodepressi — p.e. pazienti che hanno subito trapianti di organi – possono avere aumenti rapidi nei livelli di IgG a causa di infezioni ricorrenti.[3,6,9]

Sono stati condotti studi con soggetti asintomatici presumibilmente sani in due laboratori negli Stati Uniti. In un laboratorio (Sito 1) nella parte nordovest degli Stati Uniti, si trattava di 17 individui che sono stati sottoposti a controllo prima di iniziare il lavoro (4 donne e 13 uomini), tra i 21 ed i 42 anni (i campioni sono stati conservati a 2–8°C se il dosaggio è stato eseguito entro 4 giorni; altrimenti i campioni sono stati congelati a –20°C). In un secondo laboratorio nella parte sudovest degli Stati Uniti, si trattava di 100 donatori di sangue (54 donne e 46 uomini), tra i 17 e i 71 anni (i campioni sono stati prelevati e congelati).



Si è riscontrata una prevalenza di reattività al CMV del 59% (Sito 1) e del 66% (Sito 2) in questi due diversi Centri.

Questi studi hanno incluso anche 48 (Sito 1) e 71 (Sito 2) donne gravide tra i 18 ed i 43 anni (Sito 1) ed i 14 e 48 anni (Sito 2). La prevalenza della reattività al CMV per questa popolazione specifica in questi due centri era del 46% e del 76%, rispettivamente.

Sono stati condotti altri studi presso il Sito 1 con un totale di 55 pazienti che erano HIV positivi, affetti da AIDS, o immunocompromessi per altre ragioni. La prevalenza delle infezioni CMV per questo gruppo era del 75%.

Le prevalenze di cui sopra per i soggetti asintomatici ed immunocompromessi e per le donne gravide sono simili ai risultati registrati in letteratura[9]. Comunque, la prevalenza può variare a seconda delle differenze geografiche o di popolazione.

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

Limiti

I risultati del dosaggio devono essere considerati nel contesto dell'anamnesi della sintomologia del paziente e di altre informazioni fornite dal laboratorio.

La presenza di anticorpi IgG in un campione singolo non è sufficiente per distinguere tra un'infezione attiva ed un'infezione precedente.

La presenza di un'infezione iniziale, o la riattivazione di un'infezione precedente dovrebbe essere determinata mediante isolamento del virus nella coltura tessutale[3,9].

I pazienti che eventualmente presentano un'infezione iniziale o un'infezione attiva devono essere analizzati per la presenza degli anticorpi IgM Anti-CMV.

Per la determinazione della sieroconversione da *non reattivo* a *reattivo*, è necessario prelevare un secondo campione tre – quattro settimane dopo il campione acuto non reattivo, durante la fase di convalescenza dell'infezione. Il campione della fase acuta deve essere conservato ed analizzato in parallelo con il campione della fase di convalescenza.

E' possibile che individui con un'infezione CMV acuta non mostrino anticorpi IgG rilevabili nelle prime fasi dell'infezione.

I campioni che contengono anticorpi antinucleo o altri anticorpi anticellulari possono produrre risultati erroneamente reattivo.

Può verificarsi un aumento nei livelli di anticorpi anti-CMV in pazienti affetti da morbillo, virus della varicella-zoster (VZV) o virus dell'herpes simplex (HSV) dovuta alla crossreattività antigenica all'internod della famiglia di virus dell'Herpes. E' possibile che pazienti con infezione acuta da EBV (Epstein-Barr Virus) possano mostrare una reattività maggiore verso altri virus, incluso il CMV.

I risultati in pazienti HIV, in pazienti sottoposti a terapia immunosoppressiva o in pazienti affetti da altri disturbi che portano all'immunosopressione devono essere interpretati con cautela.

Le caratteristiche delle prestazioni di questo dosaggio non sono state ancora stabilite per utilizzo con campioni neonatali, sangue del cordone ombelicale, o pazienti pretrapianto.

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 il rapporto segnale-al-limite, calcolato nella maniera seguente. (Laddove non diversamente specificato, tutti i dati sono stati generati da campioni di siero raccolti in provette senza gel separatore o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.)

Precisione Intra-Dosaggio (All'interno della stessa seduta): Sono state calcolate statistiche per campioni dai risultati di 20 ripetizioni in un'esecuzione unica. (Vedere la tabella “Precisione intraprove”.)

Precisione Inter-Dosaggio (Da una seduta all'altra): Sono state calcolate statistiche per campioni dai risultati di 4 esecuzioni diverse. (Vedere la tabella “Precisione interprove”.)

Tipo di Campione Alternativo: Per determinare l'effetto di campioni alternativi, è stato prelevato del sangue da 20 volontari in provette semplici, eparinizzate, EDTA e Becton Dickinson vacutainer SST. Ad ugual volumi di campioni misti sono state aggiunte varie concentrazioni di CMV IgG per ottenere valori lungo l'intero range di calibrazione del dosaggio e quindi dosati con il kit IMMULITE 2000 CMV IgG.

(EDTA) = 0,99 (Siero) + 0,03
r = 0,998

(Eparina) = 0,99 (Siero) + 0,19
r = 0,997

(SST) = 1,0 (tubi semplici) + 0,10
r = 0,997

Valore medio:
9,7 (Siero)
9,6 (EDTA)
9,8 (Eparina)
9,9 (SST)

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 539 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

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

Comparazione di Metodi: Il dosaggio IMMULITE 2000 CMV IgG è stato comparato al dosaggio IMMULITE CMV IgG in 229 campioni di pazienti.

	IMMULITE 2000		
IMMULITE	Reat	Ind	Non reat
Reattivo	165	0	0
Indeterminato	0	0	1
Non reattivo	0	0	63

Correlazione: 99,6%
Sensibilità relativa: 100%
Specificità relativa: 100%

Assistenza Tecnica

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

siemens.com/healthcare

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

Citomegalovirus IgG

Utilização: Para uso diagnóstico *in vitro* com os Analisadores dos Sistemas IMMULITE 2000 — para a detecção qualitativa de anticorpos de IgG para o citomegalovirus (CMV) no soro humano, como auxiliar na determinação do status sorológico para CMV.

Números de catálogo:
L2KCVG2 (200 testes)

Código do teste: **CVG** Cor: **Castanho**

Sumário e explicação do teste

O citomegalovirus (CMV), membro da família do vírus do herpes, é encontrado no mundo inteiro. Seres humanos de todas as idades são susceptíveis e a infecção é propagada através do contacto sexual, exposição directa a fluidos corporais infectados, transfusões sanguíneas e transplantes de órgãos[1,2,5,6]. A maioria das infecções são assintomáticas; contudo, as infecções por CMV podem ser severas em neonatos e indivíduos imuno-comprometidos[6,7]. A infecção pode também ser severa em pacientes com defeitos imunocelulares adquiridos ou congenitais, incluindo pacientes com cancro, recipientes de órgãos e pacientes com AIDS[5,6,8].

CMV é a infecção congénita mais comum, infectando entre 0,5 a 2,5% de recém-nascidos. Cinco por cento desses desenvolverão doença de inclusão citomegálica clássica com icterícia, pneumonia e doença do sistema nervoso central. Os bebés infectados podem ser assintomáticos no nascimento, mas podem desenvolver problemas neurológicos, mais tarde[3,4].

Entre 40 e 100% das pessoas possuem anticorpos detectáveis[9], com a maior prevalência em países em desenvolvimento.

Princípio do procedimento

IMMULITE 2000 CMV IgG é um solid-phase, chemiluminescent imunoensaio sequencial.

Ciclos de incubação: 2 × 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.

Amostras que estiverem turvas ou possuírem material em partículas devem ser clarificadas através de centrifugação de baixa velocidade.

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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 CMV IgG não foram ainda testados com todas as possiveis 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: 10 µL de soro

Estabilidade: 3 dias a 2–8°C, ou 6 meses a –20°C[11].

Factor de pré-diluição automática: 20

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.



PRECAUÇÃO! POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO
Contém material de origem humana. Cada dádiva de sangue ou componente de sangue humano foi testada pelos métodos aprovados pela FDA quanto à presença de anticorpos dos vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e tipo 2 (VIH-2), bem como do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e dos anticorpos do vírus da hepatite C (VHC). Os resultados dos testes foram negativos (não repetidamente reativos). Nenhum teste oferece total garantia de que estes ou outros agentes infeciosos estejam ausentes; este material deve ser manuseado de acordo com as boas práticas laboratoriais e precauções universais[12-14].

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.

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.

A pérola é revestida com antígeno *inactivado* de CMV. Contudo, deve-se ter cuidado devido à presença possível de vírus residuais ao trabalhar com, ou rejeitar os materiais que são fornecidos.

Os resultados anti-CMV de IgG determinados para uma dada amostra com doseamento de diferentes fabricantes

podem variar devido a diferenças nos métodos de análise e especificidade de reagente. Contudo, os resultados reportados pelo laboratório ao médico devem incluir: “Os seguintes resultados foram obtidos com IMMULITE 2000 CMV IgG EIA. Os resultados obtidos de métodos de doseamento de outros fabricantes não podem ser usados em permutação.”

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

Água: Use água destilada ou deionizada.

Materiais fornecidos

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

Embalagem de pérolas de Citomegalovirus IgG (L2CVG12)
Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com antígenos de CMV inactivado e purificado parcialmente, inactivados (cepa AD-169 de lisados de células infectadas) Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KCVG2: 1 embalagem

Embalagem de reagentes de Citomegalovirus IgG (L2CVGA2)
Com código de barras. Duas reagente: 11,5 mL de uma solução tamponizada; 11,5 mL de fosfatase alcalina (intestino de bezerro) conjugada com anticorpo monoclonal murino de IgG anti-humano tamponizado, com conservante. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KCVG2: 1 embalagem

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.

Ajuste Citomegalovirus IgG (LCVGR)
4 mL de soro humano com IgG que é reactivo com CMV tamponizado, com conservante. O Ajuste funciona como o interruptor. Estável, após a abertura, durante 14 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KCVG2: 1 frasco

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

Controlos de Citomegalovirus IgG (LCVGC1, LCVGC2)
LCVGC1: Um frasco (2,0 mL) Controlo Negitivo de soro humano com IgG que é não reactivo com CMV, com conservante.
LCVGC2: Um frasco (2,0 mL) Controlo Positivo de soro humano com IgG que é reactivo com CMV, com conservante. Estável, após a abertura, durante 14 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KCVG2: 1 conjunto

O software do IMMULITE 2000 permite a auto-diluição de amostras de controlo, e os resultados serão localizados na base de dados do CQ. Introduzir os controlos como controlos.

Para os valores actuais de proporção de controlo, consulte o folheto incluso de Controlo.

Diluente de amostra para IgG/IgM (L2IGZ2)
Para a diluição no aparelho de amostras de doentes e controles. 55 mL concentrado pronto a usar, matriz protéica tamponizada de origem não humana, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KCVG2: 1 frasco

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2KCVG2: 3 etiquetas

Componentes do kit fornecidos separadamente

Diluente de amostra para IgG/IgM (L2IGZ2)
Para a diluição no aparelho de amostras de doentes e controles. 55 mL concentrado pronto a usar, matriz protéica tamponizada de origem não humana, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2IGZ2: 1 frasco

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2IGZ2: 5 etiquetas

L2SUBM: Substrato quiomioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Kit de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)
L2ZT: 250 Tubos de diluente da amostra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

LCVGCM: Módulo controle de Citomegalovirus IgG com dois níveis

Também necessário
Água destilada ou desionizada; tubos de amostra

Procedimento do doseamento

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

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

Intervalo entre ajustes aconselhável: 4 semanas

Amostras de controlo de qualidade: Os controlos de CMV IgG fornecidos com o kit devem ser usados como material de controlo de qualidade para monitorar o desempenho do doseamento na faixa de interruptor. O controlo positivo é usado para validar o doseamento de IMMULITE 2000 CMV IgG a um nível crítico quando se determina o status sorológico de um paciente.

Os controlos devem ser processados no (ou próximo do) início de cada ensaio com amostras de doentes, e também quando proceder a reajustes.

Para os valores actuais de proporção de controlo, consulte o folheto incluso de Controlo.

Calculo do Cutoff e da razão Amostra/CO: O Cutoff do ensaio foi determinado a partir de amostras representativas de modo a obter-se uma sensibilidade e especificidade óptima.

O valor do Cutoff é igual à média das contagens por segundo (média de cps) do Ajuste (do ajuste mais recente) multiplicado pelo parâmetro 1 da curva. (Veja os campos “CPS do Ajuste Baixo” e “Parâmetro 1 da Curva” no ecrã de Informação do kit IMMULITE 2000, a que pode aceder-se no menu pela Entrada de Dados: Entrada do Kit.)

O calculo da razão sinal da amostra/CO é feita usando a seguinte fórmula:

$$\text{Razão S/CO} = \frac{\text{Cps da amostra ou control}}{\text{Cps Média ajuste} \times \text{P1}}$$

Os cálculos qualitativos (reactivo / não reactivo / indeterminados) e a razão CO/S são efectuados automáticamente pelo IMMULITE 2000.

O resultado da amostra é “indeterminado” se os CPS da amostra estiverem no intervalo de ±10% do cutoff. O resultado é “reactivo” se os CPS da amostra forem superiores ao intervalo em que se considera indeterminado, e “não reactivo” se forem inferiores.

Controlos adicionais podem ser testados de acordo com as directrizes ou requisitos das regulamentações locais, estaduais e/ou federais, ou das organizações acreditadas.

Recomenda-se também que as amostras reactivas e não reactivas conhecidas sejam testadas periodicamente para assegurar a exactidão da pipetagem para a etapa de diluição.

Interpretação dos resultados

Um resultado "**reactivo**" (relação co/s ≥ 1,1) indica que foram detectados anticorpos de CMV IgG na amostra do paciente.

Um resultado "**não reactivo**" (relação co/s < 0,9) indica que não foram detectados anticorpos de CMV IgG na amostra do paciente.

Qualquer resultado "**indeterminado**" (razão s/co entre 0,9 e < 1,1) deverá ser testado de novo. As amostras que continuam a testar como "indeterminadas" deverão ser testadas por um método alternativo, ou uma segunda amostra deve ser colhida – se possível – dentro de um período razoável de tempo (por exemplo, uma semana).

A presença de anticorpos IgG para CMV é uma indicação de exposição prévia ao vírus. Um único espécime pode ser usado para determinar o status serológico do indivíduo.

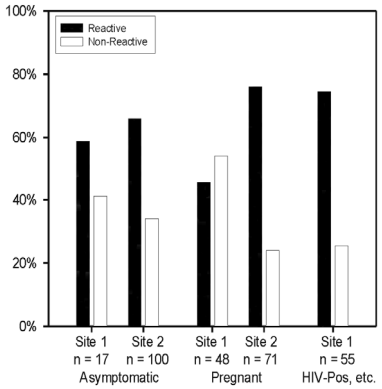
A magnitude dos resultados medidos (cps) acima do interruptor não é indicativo da quantidade total do anticorpos detectados.

Valores de Referência

Baseado no seu relacionamento com o IMMULITE CMV IgG (veja Comparação de Métodos), pode-se esperar que os doseamentos tenham essencialmente as mesmas faixas de referência.

Indivíduos com CMV podem não exibir níveis detectáveis de anticorpos IgG em fase preliminar da infecção. Níveis de anticorpos IgG para o CMV começam a elevar-se uma ou duas semanas após a infecção primária. Indivíduos saudáveis e normais não terão alterações significativas no seu nível de anticorpos com reactivação do vírus. Os pacientes com SIDA e outros indivíduos imunosuprimidos, por exemplo, aqueles com transplantes de órgãos, podem ter um aumento rápido em níveis de IgG com infecções recorrentes[3,6,9].

Estudos com indivíduos assintomáticos presumivelmente saudáveis foram conduzidos em dois locais nos Estados Unidos. Num local (Local 1) no noroeste dos Estados Unidos, os doentes consistiram de 17 indivíduos que se submeteram a uma triagem de pré-emprego (4 mulheres e 13 homens), com idades que variavam de 21 a 42 anos (as amostras foram estabilizadas a 2–8°C se o doseamento foi realizado dentro de 4 dias, de contrário as amostras eram congeladas a –20°C). Num outro local no sudoeste dos Estados Unidos, os sujeitos consistiram de 100 doadores de sangue (54 mulheres e 46 homens), com idades que variavam de 17 a 71 anos (as amostras foram colhidas e congeladas).



A prevalência da reactividade de CMV foi comprovada ser 59% (Local 1) e 66% (Local 2) nesses dois locais geograficamente distintos nos Estados Unidos.

Esses locais de estudos também incluíram 48 (Local 1) e 71 (Local 2) mulheres grávidas, com idades que variavam de 18 a 43 anos (Local 1) e 14 a 48 anos (Local 2). A prevalência da reactividade de CMV para esta população especifica e nesses dois locais foi 46% e 76%, respectivamente.

Estudos adicionais foram conduzidos no Local 1 com um total de 55 doentes que eram seropositivos HIV, com SIDA, ou estavam imunocomprometidos por outras razões. A prevalência de infecções por CMV neste grupo foi de 75%.

As prevalências listadas acima para sujeitos assintomáticos, grávidas e imunocomprometidos são semelhantes àquelas reportadas na literatura[9]. Contudo, a prevalência pode variar devido a diferenças geográficas ou populacionais.

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

Limitações

Os resultados do teste devem ser tirados dentro do contexto da história clínica do paciente, sintomatologia e outros achados de laboratório.

A presença dos anticorpos IgG num único espécime não é suficiente para distinguir entre a infecção activa ou prévia.

A presença de uma infecção primária, ou reactivação de uma infecção anterior, deve ser determinada pelo isolamento do vírus em cultura de tecido.[3,9]

Os pacientes suspeitos de ter a infecção primária ou activa devem ser testados para a presença do anticorpos IgM para CMV.

Para a determinação da soroconversão de *não reactiva* para *reactiva*, uma segunda amostra de soro deve ser colhida três a quatro semanas após a amostra aguda, não reactiva, durante a fase de convalescença da infecção. A amostra da fase aguda deve ser armazenada e testada em paralelo com a amostra convalescente.

Indivíduos com infecção CMV aguda podem não exibir nenhum anticorpo IGG detectável na fase precoce da infecção.

As amostras que contém anticorpos anti-nucleares ou outros anticorpos anticelulares podem ter resultados falso reactivo.

Um aumento no nível de anticorpos de CMV pode ocorrer em pacientes com sarampo, vírus da varicela-zoster (VZV), ou vírus da herpes simplex (HSV) devido à reactividade cruzada antigénica dentro da família de herpesvírus. Pacientes com infecção EBV aguda (Epstein-Barr Virus) podem mostrar maior reactividade a outros vírus, incluindo CMV.

Os resultados em doentes com HIV, com terapias que levem à imunosupressão ou com desordens que provoquem imunosupressão, devem ser interpretados com cautela

As características de desempenho deste doseamento não foram estabelecidas para uso com espécimes neonatais, sangue do cordão, ou pacientes de pré-transplante.

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

Consulte Tabelas e Gráficos para dados *representativos* do desempenho do doseamento. Os resultados são expressos numa proporção de sinal-para-interruptor calculada como. 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.

Precisão Intra-ensaio (Entre ensaios): Cálculos estatísticos foram efectuados para os resultados de 20 réplicas num único ensaio. (Consulte a tabela “Intraassay Precision”.)

Precisão Inter-ensaio (Ensaio a ensaio): Cálculos estatísticos foram efectuados para os resultados para 4 réplicas. (Consulte a tabela “Interassay Precision.”)

Tipo de amostra alternativa: Para determinar o efeito de amostras alternatives, foi colhido sangue de 20 voluntários em tubos secos, com EDTA, heparinizados e tubos de vacum SST da Becton Dickinson. A volumes iguais das mesmas amostras foram adicionadas várias concentrações de CMV IgG para obter valores ao longo da gama de

calibração do ensaio. As amostras foram doseadas com o IMMULITE 2000 CMV IgG.

(EDTA) = 0,99 (Soro) + 0,03
r = 0,998

(Heparina) = 0,99 (Soro) + 0,19
r = 0,997

(SST) = 1,0 (tubos simples) + 0,10
r = 0,997

Médias:
9,7 (Soro)
9,6 (EDTA)
9,8 (Heparina)
9,9 (SST)

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.

Hemolise: A presença de hemoglobina em concentrações até 539 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipemia: A presença de triglicéridos em concentrações até 3000 mg/dL não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Comparação de Métodos: O doseamento foi comparado ao CMV IgG IMMULITE em 229 amostras de doentes.

	IMMULITE 2000		
IMMULITE	React	Ind	Não react
Reactivo	165	0	0
Indeterminado	0	0	1
Não reactivo	0	0	63

Correlacção: 99,6%
Sensibilidade relativa: 100%
Especificidade: 100%

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

siemens.com/healthcare

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE is a trademark of
Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2009 Siemens Healthcare Diagnostics.
All rights reserved.

Made in: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

CE 0197

2019-07-16

PIL2KCVG – 18

cc#EU23606, cc#EU23606A

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol	Definition
IVD	**En:** *In vitro* diagnostic medical device **De:** Medizinisches Gerät zur *In-vitro* Diagnose **Es:** Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro* **Fr:** Dispositif médical de diagnostic *in vitro* **It:** Dispositivo medico per diagnostica *in vitro* **Pt:** Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
REF	**En:** Catalog Number **De:** Katalognummer **Es:** Número de referencia **Fr:** Numéro de référence catalogue **It:** Codice catalogo **Pt:** Número de catálogo

Symbol Definition

En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante

EC REP

En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia

CE

En: CE Mark
De: CE-Kennzeichen
Es: Marca CE
Fr: Marque CE
It: Marchio CE
Pt: Marca CE

CE XXXX

En: CE Mark with identification number of notified body
De: CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle
Es: Marca CE con número de identificación del organismo notificado
Fr: Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié
It: Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato
Pt: Marca CE, com número de identificação do organismo notificado

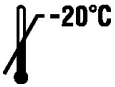
En: Consult instructions for use
De: Bedienungshinweise beachten
Es: Consulte las instrucciones de uso
Fr: Consulter le mode d'emploi
It: Consultare le istruzioni per l'uso
Pt: Consulte as instruções de utilização

Symbol Definition

En: Caution! Potential Biohazard
De: Vorsicht! Biologisches Risikomaterial
Es: ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial
Fr: Avertissement ! Risque biologique potentiel
It: Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico
Pt: Atenção! Potenciais Riscos Biológicos



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



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



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



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



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

Symbol	Definition
	**En:** Keep away from sunlight **De:** Vor Sonneneinstrahlung schützen **Es:** Proteger de la luz solar **Fr:** Maintenir hors de portée de la lumière du soleil **It:** Non esporre alla luce del sole **Pt:** Manter afastado da luz solar
LOT	**En:** Batch code **De:** Chargenbezeichnung **Es:** Número de lote **Fr:** Numéro de code du lot **It:** Codice lotto **Pt:** Código de lote
	**En:** Contains sufficient for (n) tests **De:** Es reicht für (n) Tests **Es:** Contiene suficiente para (n) pruebas **Fr:** Contient du matériel suffisant pour (n) tests **It:** Contiene materiale sufficiente per (n) test **Pt:** Contém o suficiente para (n) testes
2008-01	**En:** Date format (year-month) **De:** Datumsformat (Jahr-Monat) **Es:** Formato de fecha (año-mes) **Fr:** Format de la date (année-mois) **It:** Formato data (anno-mese) **Pt:** Formato de data (ano-mês)
	**En:** Use by **De:** Verwendbar bis **Es:** Fecha de caducidad **Fr:** A utiliser avant **It:** Usare entro **Pt:** Usar até
	**En:** Health Hazard **De:** Gesundheitsgefährdung **Es:** Peligro para la salud **Fr:** Dangereux pour la santé **It:** Pericolo per la salute **Pt:** Perigo para a saúde
	**En:** Exclamation Mark **De:** Ausrufezeichen **Es:** Signo de exclamación **Fr:** Point d'exclamation **It:** Punto esclamativo **Pt:** Ponto de exclamação
	**En:** Corrosion **De:** Korrosion **Es:** Corrosión **Fr:** Corrosion **It:** Corrosione **Pt:** Corrosão

Symbol	Definition
	**En:** Skull and Crossbones **De:** Totenkopf mit gekreuzten Knochen **Es:** Calavera y tibias cruzadas **Fr:** Tête de mort sur tibias croisés **It:** Teschio e tibie incrociate **Pt:** Caveira sobre tíbias cruzadas
	**En:** Environment **De:** Umwelt **Es:** Medio ambiente **Fr:** Environnement **It:** Ambiente **Pt:** Ambiente
BEAD PACK	**En:** Bead Pack **De:** Kugel-Container **Es:** Cartucho de bolas **Fr:** Cartouche de billes **It:** Contenitore di biglie **Pt:** Embalagem de esferas
TEST UNIT	**En:** Test Unit **De:** Testeinheit **Es:** Unidades de análisis **Fr:** Unité de test **It:** Test Unit **Pt:** Unidades de Teste
REAG WEDGE REAG WEDGE A REAG WEDGE B REAG WEDGE D	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto

Symbol	Definition
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL CONTROL 1 CONTROL 2 CONTROL 3	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo

Symbol	Definition
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

CMV IgM

For the Qualitative Detection of IgM Antibodies to Cytomegalovirus (CMV) in Human Serum and Plasma

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 CMV IgM

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the qualitative detection of IgM antibodies to cytomegalovirus (CMV) in human serum or plasma (EDTA or heparinized), as an aid in the determination of an acute CMV infection.

This product has been licensed in Canada for diagnostic purposes and has not been licensed for blood donor screening.

Catalog Numbers: **L2KCM2** (200 tests)

Test Code: **CMM** Color: **Dark Green**

Summary and Explanation

Cytomegalovirus (CMV), a member of the herpes virus family, is found throughout the world. Humans of all ages are susceptible and infection is spread through sexual contact, direct exposure to infected body fluids, blood transfusions and organ transplants.[1,2,5,6] The majority of infections are asymptomatic; however, CMV infections can be severe in neonates and immunocompromised individuals.[6,7] Infection can also be severe in patients with congenital or acquired cellular immune defects, including cancer patients, organ recipients and AIDS patients.[5,6,8]

CMV is the most common congenital infection, infecting between 0.5 and 2.5 percent of newborn infants. Five percent of these will develop classic cytomegalic inclusion disease with jaundice, pneumonia and central nervous system disorder. Infected infants may be asymptomatic at birth, but can develop neurological problems later in life.[3,4]

Between 40 and 100 percent of people have detectable antibody,[9] with the prevalence highest in developing countries. The presence of IgM antibody is a reliable indicator of an active infection.

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 CMV IgM is a solid-phase, enzyme-labeled chemiluminescent three-step immunoassay. The solid phase (bead) is coated with inactivated, purified CMV antigen (strain AD-169 from infected cell lysates). The liquid phase consists of three reagents: 1) polyclonal goat anti-human IgG antibody in buffer, 2) polyclonal goat anti-human IgG antibody in buffer, and 3) alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to polyclonal goat anti-human IgM antibody in buffer.

In the first cycle, the patient sample and polyclonal goat anti-human IgG antibody are incubated together without bead for 30 minutes. During this time, anti-IgG antibodies block IgG from the patient sample.

In the second cycle, the pretreated sample and polyclonal goat anti-human IgG antibody are transferred to the second reaction tube. Anti-IgG antibodies block remaining IgG from patient sample from binding to the CMV antigen on the bead. During this time, IgM specific for CMV in the sample binds to CMV antigen on the bead. Unbound sample and reagent are then removed by centrifugal washes.

In the third cycle, the enzyme conjugated polyclonal goat anti-human IgM antibody is added to the second reaction tube. The enzyme conjugate binds to immobilized IgM to form the antibody sandwich complex. The unbound enzyme conjugate is removed by centrifugal washes. Finally, chemiluminescent substrate is added to the reaction tube and the signal is generated in proportion to the bound enzyme.

Incubation Cycles: 3 × 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.

Samples that are cloudy or have particulate material should be clarified by low-speed centrifugation.

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 CMV IgM 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: 10 µL serum or plasma (EDTA or heparinized)

Storage: 3 days at 2–8°C or 6 months at –20°C.[12]

No predilution is required for patient samples.

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.



CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD
Contains human source material. Each donation of human blood or blood component was tested by FDA-approved methods for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) as well as for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis C virus (HCV). The test results were negative (not repeatedly reactive). No test offers complete assurance that these or other infectious agents are absent; this material should be handled using good laboratory practices and universal precautions.[13-15]

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.



H319, H302 + H312, H412

P280, P264, P273, P305 + P351 + P338, P301 + P312, P302 + P312, P501

Warning! Causes serious eye irritation. Harmful if swallowed or in contact with skin. Harmful to aquatic life with long lasting effects. Wear protective gloves/ protective clothing/eye protection/face protection. Wash hands thoroughly after handling. Avoid release to the environment. IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell. IF ON SKIN: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell. Dispose of contents and container in accordance with all local, regional, and national regulations.
Contains: tetrasodium ethylene diamine tetraacetate, aminocaproic acid; CMV IgM Reagent Wedge
Contains: sodium azide; CMV IgM Adjustor, CMV IgM Controls

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.

The CMV IgM Adjustor and Controls supplied with the kit should be fully dissolved after reconstitution. Failure to ensure the homogeneity of the solution may result in poor reproducibility of results.

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.

The bead is coated with *inactivated* CMV antigen. However, caution is advised because of the possible presence of residual virus when working with, or disposing of, the materials supplied.

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.

CMV IgM Bead Pack (L2CM12)
With barcode. 200 beads, coated with inactivated, purified CMV antigen (strain AD-169 from infected cell lysates). Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KCM2: 1 pack

CMV IgM Reagent Wedge (L2CMA2)
With barcode. Reagent A containing 17.5 mL of a buffer solution with polyclonal goat anti-human IgG, in buffer. Reagent B containing 11.5 mL of a buffer solution with polyclonal goat anti-human IgG, in buffer. Reagent C containing 11.5 mL of alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to polyclonal goat anti-human IgM antibody, in buffer. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KCM2: 1 wedge

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.

CMV IgM Adjustor (L2CMJ3)
One vial of lyophilized human serum with IgM reactive to CMV, with preservative. Reconstitute with **2.0 mL** distilled or deionized water. Mix by gentle swirling or inversion until the lyophilized material is fully dissolved. (No further dilution is required.) Stable at 2–8°C for 14 days after reconstitution, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KCM2: 1 vial

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.

CMV IgM Controls (LCMC1, LCMC2)
LCMC1: (Negative Control): One vial of lyophilized human serum with IgM nonreactive with CMV, with preservative.
LCMC2: (Postive Control): One vial of lyophilized human serum with IgM reactive with CMV, with preservative. Reconstitute each vial with **2.0 mL** distilled or deionized water. Mix by gentle swirling or inversion until the lyophilized material is fully dissolved. Stable at 2–8°C for 14 days after reconstitution, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KCM2: 1 set

Refer to the control insert for the ratio ranges.

No predilution is required for CMV IgM Adjustor and CMV IgM Controls.

Before running adjustors or controls, 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; controls

Assay Procedure

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

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

Recommended Adjustment Interval:
2 weeks

Quality Control Samples: The controls supplied with the kit should be used as quality control material to monitor assay performance.

For the current control ratio ranges, please refer to the Control insert.

Calculation of Cutoff and S/CO Ratio: The Master Cutoff of the assay was determined from representative samples to achieve optimal sensitivity and specificity for the assay.

The cutoff is set equal to the average counts per second (mean cps) of the Adjustor (from the most recent adjustment) multiplied by Curve Parameter 1. (See the “Low Adjustor CPS” and “Curve Parameter 1” fields in the IMMULITE 2000 Kit Information screen, which can be accessed from the menu via Data Entry: Kit Entry.)

Calculation of a signal/cutoff (s/co) ratio is done by using the following formula:

$$\text{S/CO Ratio} = \frac{\text{Sample or Control cps}}{\text{Mean Adjustor cps} \times \text{P1}}$$

Calculation and reporting of qualitative results (reactive / nonreactive / indeterminate) and signal/cutoff (s/co) ratio are handled automatically by the IMMULITE 2000.

The result for a sample is reported as “Indeterminate” if the counts per second for that sample fall within ±10% of the cutoff. The result is reported as “Reactive” if the sample's counts are *above* the indeterminate range, and “Nonreactive” if *below* this range.

Interpretation of Results

The cutoff of the IMMULITE 2000 CMV IgM assay was determined with reactive and nonreactive patient samples by a ROC analysis, with a balanced consideration of sensitivity and specificity.

A result of **“Reactive”** (ratio of ≥ 1.1) indicates that the patient sample is reactive and that CMV IgM antibodies were detected in the sample.

A result of **“Nonreactive”** (ratio of < 0.9) indicates that the patient sample is nonreactive and that CMV IgM antibodies were not detected in the sample.

Any result of **“Indeterminate”** (ratio between 0.9 and < 1.1) should be retested. Samples which still test as “Indeterminate” should be tested by an alternate method, or a second sample should be taken — if possible — within a reasonable period of time (e.g., one week).

The presence of IgM antibodies to CMV virus is an indication of recent exposure to the virus.

The magnitude of the measured results (cps) above the Cutoff is not indicative of the total amount of antibodies detected.

The results reported by the laboratory to the physician should include: “The following results were obtained with the IMMULITE 2000 CMV IgM EIA. Results obtained from other manufacturers' assay methods may not be used interchangeably.”

Expected Values

Individuals with active CMV infection will exhibit detectable levels of IgM antibody at the time of the onset of symptoms. Levels of IgM antibodies to CMV will subsequently decline and are undetectable after several months.

Limitations

The results of the test must be taken within the context of the patient's clinical history, symptomology and other laboratory findings.

The presence of a primary infection, or reactivation of a past infection, can also be determined by isolation of the virus in tissue culture.[3,9]

For the determination of seroconversion from *nonreactive* to *reactive*, a second serum sample should be drawn three to four weeks after the acute, nonreactive sample, during the convalescent stage of the infection. The acute phase sample should be stored and tested in parallel with the convalescent sample.

Samples containing antinuclear antibodies or other anticell antibodies may give false reactive results.

A rise in CMV antibody level may occur in patients with measles, varicella-zoster virus (VZV) or herpes simplex virus (HSV) due to antigenic crossreactivity within the herpes virus family. Patients with acute EBV (Epstein-Barr Virus) infection may show increased reactivity to other viruses, including CMV.

The results in HIV patients, in patients undergoing immunosuppressive therapy, or in patients with other disorders leading to immunosuppression, should be interpreted with caution.

The performance characteristics of this assay have not been established for use with specimens from neonates, cord blood, or pretransplant patients.

Antibodies to human IgG have been added to the reagents to remove specific IgG and rheumatoid factors which may cause false reactive responses.

Heterophilic antibodies in human serum/plasma 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 as a signal-to-cutoff ratio. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

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.)

Specificity: A study was conducted to evaluate whether the measurement of cytomegalovirus IgM antibody is affected by closely related microorganisms. Sera containing antibodies to rheumatoid factor (*n* = 10), syphilis (*n* = 10), *Toxoplasma* (*n* = 20), Epstein-Barr virus (*n* = 10), varicella zoster virus (*n* = 10) and rubella (*n* = 10) were tested by IMMULITE 2000 CMV IgM. Sixty-six out of 70 samples yielded nonreactive results. Two out of 70 samples (1 syphilis and 1 VZV) yielded indeterminate results, and 2 out of 70 samples (1 *Toxoplasma* and 1 EBV) yielded positive results. These 4 samples were further tested by a commercially available CMV IgM assay from VIDAS and yielded 2 equivocal results (1 syphilis and 1 *Toxoplasma*), and 2 confirmed positive results (1 EBV and 1 VZV).

Bilirubin: Presence of 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 522 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 3000 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 40 volunteers into plain, heparinized, EDTA and Becton Dickinson SST® plastic vacutainer tubes. 10 of the matched samples were spiked with various concentrations of CMV IgM, to obtain values throughout the calibration range of the assay, and then assayed by the IMMULITE 2000 CMV IgM procedure.

(Heparin) = 0.98 (Serum) – 0.024
r = 0.997

(EDTA) = 1.08 (Serum) – 0.055
r = 0.988

(SST) = 0.99 (Plain Tubes) – 0.020
r = 0.996

Means:
0.75 (Serum)
0.79 (Heparin)
0.77 (SST)
0.74 (EDTA)

Clinical Performance: Clinical investigations evaluated the performance of the IMMULITE 2000 CMV IgM assay in comparison to VIDAS CMV IgM (bioMerieux, Marcy d'Etoile, France). The study included a total of 523 samples from pregnant women, transplant patients, and patients with potential crossreacting diseases or conditions; samples submitted for routine CMV serology testing; and samples from seroconversion panels.

Further analysis including CMV IgM/IgG immunoblot and Epstein-Barr (EBV) virus testing was performed on samples initially (retrospectively) identified as CMV IgM reactive. Of the 116 samples tested, 69 were identified as primary CMV infection, 13 as latent CMV infection, 24 as primary, latent or reactivated EBV infection, and 10 were resolved as CMV IgM negative.

The overall resolved agreement between IMMULITE 2000 and VIDAS is presented in Table 1. More detailed comparison of IMMULITE 2000 and VIDAS results for the samples with potential crossreacting agents is presented in Table 2.

Table 1

	VIDAS									
	R			I			NR			
	IMMULITE 2000									
Sample Type	R	I	NR	R	I	NR	R	I	NR	Total
Pregnant	2	1	0	0	0	2	0	1	152	158
Transplant patients	29	0	1	1	0	1	0	0	5	37
Total CMV IgM negative	0	1	5	1	0	3	0	0	130	140
Primary CMV infection	65	1	1	0	0	1	0	0	0	68
Latent CMV infection	2	1	8	0	0	2	0	0	0	13
BBI sero-conversion panels	5	0	0	0	0	0	0	0	10	15
Total	**103**	**4**	**15**	**2**	**0**	**9**	**0**	**1**	**297**	**431**
Crossreactives (see Table 2)	13	1	7	0	0	8	0	0	63	92
Overall Total	**116**	**5**	**22**	**2**	**0**	**17**	**0**	**1**	**360**	**523**

R = Reactive
I = Indeterminate
NR = Nonreactive

All samples excluding crossreactive cases:
Overall agreement: 92.8% (400/431); Positive agreement: 84.4% (103/122); Negative agreement: 99.7% (297/298)

Pregnant cases:
Overall agreement: 97.5% (154/158);
Positive agreement: insufficient number of samples;
Negative agreement: 99.3% (152/153)

Transplant cases:
Overall agreement: 91.9% (34/37);
Positive agreement: 96.7% (29/30);
Negative agreement: 100% (5/5)

Primary CMV cases:
Overall agreement: 95.6% (65/68);
Positive agreement: 97.0% (65/67);
Negative agreement: insufficient number of samples

Table 2: Crossreactives

Disease state	Total *n*	IMMULITE 2000:	VIDAS
Rheumatoid Factor (+)	36	34/36 nonreactive	34/36 nonreactive
Toxoplasma IgM* (+)	8	7/8 nonreactive	6/8 nonreactive
Primary, latent or reactivated EBV*	47	37/49 nonreactive	23/49 nonreactive

* One patient was positive for both *Toxoplasma* IgM and EBV

References

1) Drew WL. Herpesviridae: cytomegalovirus. In: Lennette EH, Halonen P, Murphy FA, editors. Laboratory diagnosis of infectious diseases: principles and practice, volume II, viral, rickettsial and chlamydial diseases. New York: Springer-Verlag, 1988: 247-60. 2) Ho M. Characteristics of cytomegalovirus. In: Greenough WB, Merigan TC, editors. Cytomegalovirus biology and infection: current topics in infectious disease. New York: Plenum, 1982: 9-32. 3) Hodinka RL, Friedman HM. Human cytomegalovirus. In: Balows A, Hausler, Jr WJ, Hermann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ. Manual of clinical microbiology, 5th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1991: 829-37. 4) Reynolds DW, et al. Laboratory diagnosis of cytomegalovirus infections. In: Lennette EH, Schmidt NJ, editors. Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infections, 5th ed. Washington: American Public Health Association, 1979: 399-439. 5) Van der Bij W, et al. Antigen test for early diagnosis of active cytomegalovirus infection in heart transplant recipients. J Heart Transplant 1988;7:106-9. 6) Zaia JA. Epidemiology and pathogenesis of cytomegalovirus disease. Seminars in Hematology 1990;27:5-10. 7) Yow MD. Congenital cytomegalovirus disease: a now problem. J Infect Dis 1989;159:163-7. 8) Miller H, et al. Prospective study of cytomegalovirus

antigenemia in allograft recipients. J Clin Microbiol 1991;29:1054-5. 9) Wiedbrauk DL, Johnston SLG. Manual of clinical virology. New York: Raven Press, 1993: 82-91. 10) 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. 11) Baltz ML, Searcy RL. Clinical significance and advanced serologic diagnosis of ToRCH infections. Am Clin Lab 1994;March/April:18-23. 12) Tietz NW, editor. Clinical guide to laboratory tests. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1995:358. 13) Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. MMWR, 1988;37:377–82, 387–8. 14) Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3. 15) Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030.

Technical Assistance

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

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

Precision (ratio)

		Within-Run[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	0.07	0.01	14.3%	0.01	14.3%
2	0.14	0.03	21.4%	0.03	21.4%
3	0.90	0.06	6.7%	0.07	7.8%
4	1.06	0.05	4.7%	0.09	8.5%
5	1.31	0.07	5.3%	0.09	6.9%
6	2.33	0.11	4.7%	0.15	6.4%
7	2.36	0.07	3.0%	0.12	5.1%
8	8.65	0.31	3.6%	0.51	5.9%

Deutsch. **Precision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]S (Standardabweichung), [5]CV (Variationskoeffizient).

Español. **Precision**: [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV.

Français. **Precision**: [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]SD, [5]CV.

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione).

Português. **Precision**: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação.

Deutsch

IMMULITE 2000 CMV IgM

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme — zum qualitativen Nachweis von IgM-Antikörpern gegen das Zytomegalievirus (CMV) in humanem Serum oder Plasma (EDTA oder Heparin) als Hilfsmittel zum Nachweis einer akuten CMV-Infektion.

Artikelnummern: **L2KCM2** (200 Tests)

Testcode: **CMM** Farbe: **dunkelgrün**

Klinische Relevanz

Das CMV gehört zur Gattung der Herpesviren und ist weltweit zu finden. Eine Infektionsanfälligkeit besteht bei Menschen jeden Alters. Die Übertragung erfolgt über sexuellen Kontakt, direkten Kontakt mit infizierten Körperflüssigkeiten, Bluttransfusionen oder Organtransplantate.[1,2,5,6] Zwar bleiben die meisten Zytomegalie-Infektionen beschwerdefrei, neugeborene Kinder sowie immungeschwächte Patienten können jedoch schwer daran erkranken.[6,7] Schwere Infektionen sind auch bei Patienten mit angeborenen oder erworbenen zellulären Immundefekten – wie z.B. Krebspatienten, Organempfängern und AIDS-Patienten – möglich.[5,6,8]

Zytomegalie ist eine der häufigsten kongenitalen Infektionen und betrifft 0,5–2,5% aller neugeborenen Kleinkinder. In 5% dieser Fälle kommt es zur klassischen zytomegalen

Einschlusskörperkrankheit mit Gelbsucht, Lungenentzündung und zentralnervösen Erkrankungen. Infizierte Kleinkinder sind häufig bei der Geburt beschwerdefrei, entwickeln aber im späteren Leben neurologische Syndrome.[3,4]

40–100% aller Menschen zeigen nachweisbare Antikörper,[9] wobei die Prävalenz in den Entwicklungsländern am höchsten ist. Das Vorliegen von IgM-Antikörpern ist ein zuverlässiger Indikator für eine aktive Infektion.

Methodik

Der IMMULITE 2000 CMV IgM ist ein Festphasen-, enzymmarkierter, 3-Schritt-Chemilumineszenz-Immunoassay. Die Festphase (Kugel) ist mit inaktiviertem, gereinigten CMV-Antigen (Stamm AD-169 aus infizierten Zelllysaten) beschichtet. Die Flüssigphase besteht aus drei Reagenzien: 1) Polyklonaler Ziegen-anti-human IgG Antikörper in Pufferlösung. 2) Polyklonaler Ziegen-anti-human IgG Antikörper in Pufferlösung und 3) polyklonaler Ziegen anti-human IgM Antikörper konjugiert mit Alkalischer Phosphatase (aus Rinderkalbsdarm) in Pufferlösung.

Im ersten Zyklus werden die Patientenprobe und der polyklonale Ziegen-anti-human IgG Antikörper zusammen, ohne Kugel, für 30 Minuten inkubiert. Während dieser Zeit blockieren die anti-IgG Antikörper das IgG in der Patientenprobe

Im zweiten Zyklus werden die vorbehandelte Patientenprobe und der polyklonale Ziegen-anti-human IgG Antikörper in ein zweites Reaktionsröhrchen überführt. Die blockierenden anti-IgG Antikörper hindern verbliebenes IgG an der Bindung an CMV Antigen auf der Kugel. Während dieser Zeit bindet CMV spezifisches IgM aus der Patientenprobe an das CMV Antigen auf der Kugel. Ungebundenes Probenmaterial und Reagenz werden dann durch zentrifugales Waschen entfernt.

Im dritten Zyklus wird enzyme-konjugierter polyklonaler Ziegen-anti human IgM Antikörper in das zweite Reaktionsröhrchen zugegeben. Das Enzymkonjugat bindet an das immobilisierte IgM und bildet einen Antikörper-Sandwichkomplex.

Ungebundenes Enzymkonjugat wird durch zentrifugales Waschen entfernt. Zuletzt wird das Chemilumineszenzsubstrat in das Reaktionsröhrchen gegeben, das dann, proportional zur Menge des gebundenen Enzyms, ein Signal produziert.

Inkubationszyklen: 3 × 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.

Trübe oder partikelhaltige Proben sollten bei niedriger Geschwindigkeit zentrifugiert werden, bis sie klar sind.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter 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 CMV IgM sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel „Alternative Probenarten“ zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 10 µl Serum oder Plasma (EDTA oder Heparin)

Lagerung: 3 Tage bei 2–8°C oder 6 Monate bei –20°C haltbar.[12]

Patientenproben müssen nicht verdünnt werden.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *in vitro*-Diagnostik.



VORSICHT! BIOLOGISCHES RISIKOMATERIAL
Enthält Material humanen Ursprungs. Alle Blutspenden oder Blutkomponenten menschlicher Herkunft wurden nach FDA-genehmigten Methoden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die HI-Viren Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2) sowie von Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und Antikörpern gegen den Hepatitis C-Virus (HCV) getestet. Die Testergebnisse waren negativ (nicht wiederholt reaktiv). Durch keinen Test kann das Vorhandensein dieser oder anderer infektiöser Stoffe vollständig ausgeschlossen werden. Dieses Material ist mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und gemäß der allgemein anerkannten guten Laborpraxis zu handhaben.[13-15]

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.



H319, H302 + H312, H412

P280, P264, P273, P305 + P351 + P338, P301 + P312, P302 + P312, P501

Warnung! Verursacht schwere Augenreizung. Gesundheitsschädlich bei Verschlucken oder Hautkontakt. Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Nach Gebrauch Hände gründlich waschen. Freisetzung in die Umwelt vermeiden. BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen. BEI VERSCHLUCKEN: Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONS-ZENTRUM oder Arzt anrufen. BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONS-ZENTRUM oder Arzt anrufen. Inhalt und Behälter sind in Übereinstimmung mit den gesetzlichen Bestimmungen zu entsorgen.
Enthält: Tetranatrium-ethylendiamintetraacetat, Aminocapronsäure; CMV IgM Reagenzbehälter
Enthält: Natriumazid; CMV IgM Kalibrator, CMV IgM Kontrollen

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.

Der/die im Lieferumfang des Testsystems enthaltene Kalibrator sowie die Kontrolle(n) sind nach dem Rekonstituieren vollständig aufzulösen. Ist die Homogenität der Lösung nicht

sichergestellt, so kann dies die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse beeinträchtigen.

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.

Die Kugeln sind mit *inaktiviertem* CMV-Antigen beschichtet. Wegen des potenziellen Vorhandenseins überlebender Mikroorganismen ist jedoch beim Arbeiten mit und beim Entsorgen von den im Lieferumfang enthaltenen Materialien Vorsicht geboten.

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.

CMV IgM Kugel-Container (L2CM12)
Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit inaktivierten gereinigten CMV Antigen (Stamm AD-169 aus infizierten Zell-Lysaten). Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.
L2KCM2: 1 Container

CMV IgM Reagenzbehälter (L2CMA2)
Mit Barcode. Reagenz A enthält 17,5 ml einer Pufferlösung mit polyklonalem Ziege anti-human IgG. Reagenz B enthält 11,5 ml einer Pufferlösung mit Ziege anti-human IgG. Reagenz C enthält 11,5 ml mit alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugierte polyklonale Ziege anti-human IgM Antikörper, in Pufferlösung. Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.
L2KCM2: 1 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.

CMV IgM Kalibrator (L2CMJ3)
Ein Fläschchen mit lyophilisiertem Humanserum mit IgM reaktiv gegen CMV, mit Konservierungsmittel. Mit **2,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser auflösen. Zum Mischen leicht schwenken oder umdrehen, bis das lyophilisierte Material vollständig aufgelöst ist. (Muss nicht weiter verdünnt werden.) Nach Rekonstituierung 14 Tage bei 2–8°C, sonst 6 Monate (portioniert) bei –20°C haltbar.
L2KCM2: 1 Fläschchen

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

CMV IgM Kontrollen (LCMC1, LCMC2)
LCMC1: (Negativkontrolle): Ein Fläschchen mit lyophilisiertem Humanserum mit IgM nicht-reaktiv gegen CMV, mit Konservierungsmittel.
LCMC2: (Positivkontrolle): Ein Fläschchen mit lyophilisiertem Humanserum mit IgM reaktiv gegen CMV, mit Konservierungsmittel. Fläschchen mit je **2,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. Zum Mischen leicht schwenken oder umdrehen, bis das lyophilisierte Material vollständig aufgelöst ist. Nach Rekonstituierung 14 Tage bei 2–8°C, sonst 6 Monate (aliquotiert) bei –20°C haltbar.
L2KCM2: 1 Set

Die aktuellen Bereiche für das Kontrollverhältnis entnehmen Sie bitte der Packungsbeilage zur Kontrolle.

CMV IgM Kalibrator und CMV IgM Kontrollen müssen nicht verdünnt werden.

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

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substrat
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: Einweg-Reaktionsgefäße

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Teströhrchen; Kontrollen

Testdurchführung

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

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

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
2 Wochen

Proben zur Qualitätskontrolle: Die im Lieferumfang enthaltene(n) Kontrolle(n) dient/dienen zur Qualitätskontrolle für die Überwachung des Testsystems.

Die aktuellen Werte entnehmen sie bitte dem Beipackzettel für die Kontrollen.

Berechnung von Cutoff und S/CO Ratio: Zur Gewährleistung optimaler Sensitivität und Spezifität wurden repräsentative Proben zur Ermittlung des „Cutoff“ verwendet.

Die Berechnungen werden vom IMMULITE 2000-System automatisch erstellt. Der „Cutoff“ errechnet sich aus dem Durchschnittsmesswert des Kalibrators pro Sekunde (Mittelwert cps) der zuletzt durchgeführten Kalibrierung multipliziert mit dem Kurvenparameter P1. (Siehe auch „Schwach-positiv Adjustor cps“ und „Kurvenparameter 1“ in der IMMULITE 2000 Kitinformationssoftware, die über das Menü „Data Entry / Kit Entry“ erreicht werden kann).

Die Berechnung der Signal/Cutoff-Ratio (s/co) lässt sich durch nachfolgende Formel berechnen:

$$\text{S/CO Index} = \frac{\text{Proben o. Kontroll cps}}{\text{Mittelwert Kalibrator cps} \times \text{P1}}$$

Die Berechnung und die Angabe des Ergebnisses („reaktiv / nicht-reaktiv / grenzwertig“) erfolgt automatisch durch das IMMULITE 2000 System.

Das Ergebnis für eine Probe ist “grenzwertig” wenn das Signal (cps) $\pm$ 10% oberhalb bzw. unterhalb des cutoffs liegt. Das Ergebnis ist „reaktiv“, wenn das Signal für die betreffende Probe über dem Graubereich liegt, und „nicht-reaktiv“, wenn es unter dem Graubereich liegt.

Interpretation der Ergebnisse

Der Cutoff des IMMULITE 2000 CMV IgM Assay wurde mit reaktiven und nicht-reaktiven Patientenproben durch eine ROC-Analyse und einer ausgewogenen Berücksichtigung von Sensitivität und Spezifität ermittelt.

Ein Ergebnis **„reaktiv“** (s/co Ratio $\geq$ 1,1) weist darauf hin, dass CMV IgM-Antikörper in der Patientenprobe nachgewiesen wurden.

Ein Ergebnis **„nicht-reaktiv“** (s/co Ratio $<$ 0,9) weist darauf hin, dass CMV IgM-Antikörper in der Patientenprobe nicht nachgewiesen wurden.

Lautet das Ergebnis **„Grenzwertig“** (s/co ratio 0,9 und $<$ 1,1)**,** so ist der Test zu wiederholen. Proben, die ein zweites Mal ein „grenzwertiges“ Ergebnis bringen, sind entweder mit einer alternativen Methode zu testen, oder, sofern dies möglich ist, innerhalb eines vernünftigen Zeitraums (z.B. eine Woche) mit einer neu entnommenen zweiten Probe zu ergänzen.

Sind IgM-Antikörper gegen CMV vorhanden, so deutet dies auf eine kürzliche Exposition gegen den Erreger hin.

Das Ausmaß, in dem die ermittelten Ergebnisse *(cps)* den Cutoff überschreiten, sagt nichts über die Gesamtmenge der erkannten Antikörper aus.

Die vom Labor an den Arzt gemeldeten Ergebnisse sollten den folgenden Passus enthalten: „Die folgenden Ergebnisse wurden mit dem IMMULITE 2000-Testsystem zur Bestimmung von CMV IgM erzielt. Sie sind mit den Ergebnissen aus Testsystemen anderer Hersteller nicht austauschbar.“

Referenzwerte

Ab dem Auftreten von Symptomen weisen Personen mit einer aktiven CMV Infektion nachweisbare Spiegel von IgM Antikörpern auf. IgM-Spiegel nehmen im Laufe der Zeit ab und sind nach mehreren Monaten nicht mehr nachweisbar.

Grenzen der Methode

Die Testergebnisse sind vor dem Hintergrund der klinischen Anamnese, der Beschwerden des Patienten sowie weiterer Laborbefunde zu bewerten.

Das Vorliegen einer Primärinfektion oder Reaktivierung einer zurückliegenden Infektion kann auch Isolierung des Virus in Zellkultur nachgewiesen werden.[3,9]

Zur Bestimmung einer Serokonversion von *nichtreaktiv* zu *reaktiv* sollten während der Akut- und Rekonvaleszenzphase im Abstand von drei bis vier Wochen zwei Serumproben genommen werden. Die Probe aus der Akutphase sollte gelagert und parallel zur Rekonvaleszenzprobe getestet werden

Proben, die antinukleäre oder andere gegen Zellen gerichtete Antikörper enthalten, können zu falsch-reaktiven Ergebnissen führen.

Aufgrund der Antigenstruktur der Herpesvirus Familie können Patienten mit Masern, Varizella-Zoster-Virus (VZV) oder Herpes-simples-Virus einen erhöhten CMV-Antikörperspiegel aufweisen. Patienten mit akuter EBV-Infektion (Epstein-Barr-Virus) können eine erhöhe Reaktivität mit anderen Viren, einschließlich CMV, aufweisen.

Die Ergebnisse bei HIV-Patienten sowie behandlungs- oder krankheitsbedingt immunsupprimierten Patienten sollten zurückhaltend interpretiert werden.

Die Eckdaten dieses Testsystems wurden nicht für den Gebrauch mit Proben von Neugeborenen, Nabelschnüren oder Patienten mit bevorstehender Organverpflanzung etabliert.

Um spezifische IgG- und rheumatoide Faktoren auszuschließen, die zu falsch reaktiven Ergebnissen führen können, wurde den Reagenzien Antikörper gegen humanes IgG beigefügt.

Heterophile Antikörper in Humanseren/Plasma 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 Verhältnis Signal/Cutoff dargestellt. (Alle Daten wurden — sofern nicht anders angegeben — aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

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

Spezifität: Um zu evaluieren ob die Messung von CMV IgM Antikörpern durch nah verwandte Mikroorganismen beeinflusst wird, wurde eine Studie durchgeführt. Seren mit Antikörpern gegen Rheumafaktor (*n* = 10), Syphilis (*n* = 10), *Toxoplasma* (*n* = 20), Epstein-Barr-Virus (*n* = 10), Varizella Zoster Virus (*n* = 10) und Rubella (*n* = 10) wurden mit dem IMMULITE 2000 CMV IgM getestet. 66 aus 70 Proben ergaben ein ein nicht-reaktives Ergebnis. Zwei von 70 Proben (1 Syphilis und 1VZV) ergaben ein grenzwertiges Ergebnis, zwei von 70 Proben (1 *Toxoplasma* und 1 EBV) ergaben ein positives Ergebnis. Diese 4 Proben wurden weiter mit dem kommerziell verfügbaren VIDAS CMV IgM getestet und ergaben je ein grenzwertiges

Ergebnis (1 x Syphilis, 1 x *Toxoplasma*) und bestätigten die beiden positiven Ergebnisse (1 x EBV und 1 x VZV).

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

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 522 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride hat in Konzentrationen bis zu 3000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Alternativer Probentyp: Um den Effekt von alternativen Probentypen zu bewerten, wurde Blut von 40 Freiwilligen in unbehandelte, Heparin, EDTA und Becton Dickinson SST Plastic Vacutainer Röhrchen abgenommen. 10 der parallel abgenommenen Proben wurden mit unterschiedlichen Konzentrationen von CMV IgM gespiked, um Werte über den gesamten Messbereich des Assays zu erhalten und anschließend mit dem IMMULITE 2000 CMV IgM Assay gemessen.

(Heparin) = 0,98 (Serum) – 0,024
r = 0,997

(EDTA) = 1,08 (Serum) – 0,055
r = 0,988

(SST) = 0,99 (einfachen Röhrchen) – 0,020
r = 0,996

Mittelwerte:
0,75 (Serum)
0,79 (Heparin)
0,77 (SST)
0,74 (EDTA)

Klinische Leistungsdaten: In Klinischen Untersuchungen wurde die Performance des IMMULTE 2000 CMV IgM Assays im Vergleich zum VIDAS CMV IgM (BioMerieux, Marcy d'Etoile, Frankreich) evaluiert. Die Studie beinhaltete eine Anzahl von 523 Proben von schwangeren Frauen, Transplantationspatienten und von Patienten mit potentiell kreuzreagierenden Erkrankungen oder Bedingungen; sowie Proben aus der serologischen Routine CMV Testung und Proben aus Serokonversions Panels.

Weitere Analysen, die CMV IgM/IgG immunoblots und Epstein-Barr (EBV) Virus Tests einschlossen, wurden bei Proben durchgeführt die initial (retrospektiv) als CMV IgM reaktiv identifiziert wurden. Von den 116 getesteten Proben wurden 69 als primäre CMV Infektion, 13 als latente CMV Infektion, 24 als primäre, latente oder reaktivierte EBV Infektion identifiziert. 10 Proben wurden als CMV IgM negativ geklärt.

Die vollständig analysierte Übereinstimmung zwischen IMMULITE 2000 und VIDAS ist in Tabelle 1 dargestellt. Ein mehr detaillierter Vergleich der IMMULITE 2000 und VIDAS Resultate für Proben mit potentiell kreuzreagierenden Antigenen wird in Tabelle 2 präsentiert.

Tabelle 1

	VIDAS									Ges-amt
	R			I			NR			
	IMMULITE 2000									
Probentyp	R	U	NR	R	U	NR	R	U	NR	
Schwangere	2	1	0	0	0	2	0	1	152	158
Transplantations patienten	29	0	1	1	0	1	0	0	5	37
Gesamt CMV IgM negativ	0	1	5	1	0	3	0	0	130	140
Primäre CMV Infektion	65	1	1	0	0	1	0	0	0	68
Latente CMV Infektion	2	1	8	0	0	2	0	0	0	13
BBI Serokonversions Panels	5	0	0	0	0	0	0	0	10	15
Gesamt	**103**	**4**	**15**	**2**	**0**	**9**	**0**	**1**	**297**	**431**
Kreuz-reaktivitäten (siehe Tabelle 2)	13	1	7	0	0	8	0	0	63	92
Gesamt	**116**	**5**	**22**	**2**	**0**	**17**	**0**	**1**	**360**	**523**

R = Reaktiv
U = grenzwertig
NR = Nicht-reaktiv

Alle Proben unter Ausschluss der Kreuzreaktivitäts-Fälle:
Gesamtübereinstimmung: 92,8% (400/431);
Positive Übereinstimmung: 84,4% (103/122);
Negative Übereinstimmung: 99,7% (297/298)

Schwangeren Fälle:
Gesamtübereinstimmung: 97,5% (154/158);
Positive Übereinstimmung: unzureichende Anzahl der Proben;
Negative Übereinstimmung: 99,3% (152/153)

Transplantationsfälle:
Gesamtübereinstimmung: 91,9% (34/37);
Positive Übereinstimmung: 96,7% (29/30);
Negative Übereinstimmung: 100% (5/5)

Primäre CMV Fälle:
Gesamtübereinstimmung: 95,6% (65/68);
Positive Übereinstimmung: 97,0% (65/67);
Negative Übereinstimmung: unzureichende Anzahl der Proben

Tabelle 2: Kreuzreaktivitäten

Erkrankungs-status	Gesamt *n*	IMMULITE 2000	VIDAS
Rheumatoid factor (+)	36	34/36 nicht-reaktiv	34/36 nicht-reaktiv
Toxoplasma IgM* (+)	8	7/8 nicht-reaktiv	6/8 nicht-reaktiv
Primär, latent oder reaktiviertes EBV*	47	37/49 nicht-reaktiv	23/49 nicht-reaktiv

*Ein Patient war für beides positiv, *Toxoplasma* IgM und EBV

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

IMMULITE 2000 CMV IgM

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE 2000 — para la detección cualitativa de anticuerpos IgM para citomegalovirus (CMV) en suero o plasma humano (EDTA o heparinizado), como ayuda en el diagnóstico de infección aguda de CMV.

Referencia: **L2KCM2** (200 tests)

Código del Test: **CMM**
Código de Color: **Verde oscuro**

Resumen y Explicación del Test

El citomegalovirus (CMV), un miembro de la familia de los herpesvirus, se encuentra en todo el mundo. Los seres humanos de todas las edades pueden contraer la infección, que se propaga por contacto sexual, exposición directa a fluidos corporales infectados, transfusiones sanguíneas y trasplantes de órganos[1,2,5,6]. La mayor parte de las infecciones son asintomáticas, pero las infecciones por CMV pueden ser graves en neonatos e individuos cuyo sistema inmunitario se encuentre debilitado[6,7]. La infección puede ser grave también en pacientes con defectos inmunitarios celulares congénitos o adquiridos, incluidos los pacientes con cáncer, los receptores de órganos y los pacientes con SIDA[5,6,8].

CMV es la infección congénita más común e infecta a un porcentaje de entre el 0,5 y el 2,5 de los recién nacidos. Un cinco por ciento de ellos desarrollan la enfermedad de inclusión citomegálica clásica con ictericia, neumonía y alteraciones del sistema nervioso central. Los niños infectados pueden ser asintomáticos en el momento de nacer pero pueden desarrollar problemas neurológicos a lo largo de su vida[3,4].

Entre un 40 y un 100 por ciento de las personas tienen anticuerpos detectables[9], con mayor proporción en los países en desarrollo. La presencia de anticuerpos IgM es un indicador fiable de infección activa.

Principio del análisis

IMMULITE 2000 CMV IgM es un ensayo en fase sólida, de tres pasos, enzimático quimioluminiscente. La fase sólida (bola) se encuentra recubierta con antígeno purificado, inactivado de CMV (cadena AD-169 de lisado de células infectadas). La fase líquida consiste en tres reactivos:
1) anticuerpo policlonal anti-IgG humana de cabra en solución tampón.
2) anticuerpo policlonal anti-IgG humana de cabra en solución tampón, y
3) fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con anticuerpo policlonal de cabra anti-IgM humana en solución tampón.

En el primer ciclo, la muestra del paciente y el anticuerpo policlonal de cabra anti-IgG humana son incubados juntos sin la bola durante 30 minutos. Durante este tiempo, los anticuerpos anti-IgG bloquean la IgG de la muestra del paciente.

En el segundo ciclo, la muestra pretratada y el anticuerpo polyclonal de cabra anti-IgG humana es transferida al segundo tubo de reacción. El anticuerpo anti-IgG bloquea la IgG remanente de la muestra del paciente e impide que se una al antígeno CMV de la bola. Durante este tiempo, la IgM específica para CMV en la muestra se une al antígeno de CMV de la bola. La muestra no unida y el recativo son eliminados por lavados y centrifugación.

En el tercer ciclo, el anticuerpo policlonal de cabra anti-IgM humana marcado con la enzima es añadido al segundo tubo de reacción. El conjugado enzimático se une a la IgM immobilizada para formar un complejo de anticuerpos tipo sándwich. El conjugado enzimático no unido es eliminado por lavados y centrifugación. Finalmente, se añade el sustrato quimioluminiscente al tubo de reacción y la señal es generada de manera proporcional al enzima unido.

Ciclos de incubación: 3 × 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.

Las muestras que estén turbias o tengan un material particular deben aclararse mediante una centrifugación a baja velocidad.

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

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. IMMULITE 2000 CMV IgM 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: 10 µl suero o plasma (EDTA o heparinizado)

Conservación: 3 días a 2–8°C, o –20°C durante 6 meses[12].

No es necesaria ninguna dilución previa para las muestras de pacientes.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.



¡PRECAUCIÓN! RIESGO BIOLÓGICO POTENCIAL
Contiene material de origen humano. Cada donación de sangre humana o componente sanguíneo ha sido probada por métodos aprobados por la FDA con el fin de detectar la presencia de anticuerpos de los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2), así como el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y el anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (VHC). Los resultados de estas pruebas fueron negativos (no repetidamente reactivos). Ninguna prueba ofrece total garantía de que en las muestras no haya estos agentes infecciosos u otros; por tanto, este material se deberá manipular conforme a las prácticas recomendables de laboratorio y las precauciones universales.[13-15]

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.



H319, H302 + H312, H412

P280, P264, P273, P305 + P351 + P338, P301 + P312, P302 + P312, P501

¡Advertencia! Provoca irritación ocular grave. Nocivo en caso de ingestión o en contacto con la piel. Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. Llevar guantes/prendas/ gafas/máscara de protección. Lavarse las manos concienzudamente tras la manipulación. Evitar su liberación al medio ambiente. EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE INFORMACION TOXICO-LOGICA o a un médico en caso de malestar. EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Llamar a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico en caso de malestar. Eliminar el contenido y el recipiente de acuerdo con las normativas locales, regionales y nacionales. **Contiene:** etilen diamino tetraacetato de tetrasodio, ácido aminocaproico; Viales de reactivos de CMV IgM **Contiene:** azida de sodio; Ajustador de CMV IgM, Controles de CMV IgM

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.

El/los Ajustador(es) y Control(es) suministrados con el kit deben disolverse completamente. Si no se asegura la homogeneidad de la solución, puede reducirse la reproductibilidad de los resultados.

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 constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las cañerías de cobre y plomo.

La bola está recubierta con antígeno CMV *inactivado*. Sin embargo, se recomienda tomar precauciones debido a la posible presencia de virus residuales, cuando se trabaje con el material suministrado y cuando se deseche.

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 CMV IgM (L2CM12)
Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con antigeno de CMV inactivado, purificado (cadena AD-169 de células infectadas lisadas). Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KCM2: 1 cartucho

Viales de reactivos de CMV IgM (L2CMA2)
Con códigos de barras. Reactivo A que contienen 17,5 ml de una solución tampón con anticuerpo de cabra policlonal frente a IgG humana. Reactivo B que contiene 11,5 ml de una solución tampón con anticuerpo de cabra policlonal anti IgG humana. Reactivo C que contiene 11,5 ml de fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con policlonal anticuerpo de cabra frente IgM humana, en solución tampón. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KCM2: 1 vial

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.

Ajustador de CMV IgM (L2CMJ3)
Un vial de suero humano liofilizado con IgM reactiva frente a CMV, con conservante. Reconstituir con **2,0 ml** de agua destilada o desionizada. Mezcle por agitación o inversión suave hasta que se haya disuelto completamente el material liofilizado. (No es necesaria ninguna dilución más.) Estable a 2–8°C durante 14 días después de la reconstitución, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KCM2: 1 vial

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.

Controles de CMV IgM (LCMC1, LCMC2)
LCMC1: (Control negativo): Un vial de suero humano liofilizado con IgM no reactiva frente a CMV, con conservante.
LCMC2: (Control positivo): Un vial de suero humano liofilizado con IgM reactiva frente CMV, con conservante.
Reconstituya cada vial con **2,0 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 14 días después de la reconstitución, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KCM2: 1 juego

Para los intervalos control actuales, por favor consulte el prospecto del Control.

No es necesaria ninguna dilución previa para los ajustadores de CMV IgM y los controles CMV IgM.

Antes de procesar adjustadores o controles, 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: Substrato 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; controles

Ensayo

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

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Recommended Adjustment Interval:
2 semanas

Muestras de Control de Calidad: El/los control(es) suministrados con el kit deben utilizarse como control de calidad con el objetivo de controlar el funcionamiento del ensayo.

Para los intervalos control actuales, por favor consulte el prospecto del Control.

Calculo de Cutoff y Ratio S/CO: El punto de corte (Cutoff) Master del ensayo fue determinado con muestras representativas que mostraron una óptima sensibilidad y especificidad para el ensayo.

El cutoff es obtenido de la media de las cuentas por segundo (media de cps) del ajustador bajo (del ajuste mas reciente) multiplicada por el parametro 1 de la curva. (Ver “Low Adjustor CPS” and “Curve Parameter 1” dentro de la pantalla de Información del Kit a la cual se entra a traves del menú del IMMULITE 2000 via Data Entry: Kit Entry.)

El cálculo del ratio señal/cutoff (s/co) se realiza utilizando la formula siguiente:

$$\text{S/CO Ratio} = \frac{\text{Muestra o Control cps}}{\text{Media cps Adjustador} \times \text{P1}}$$

El cálculo nos mostrará un informe cualitativo (reactivo / no reactivo / indeterminado) y se mostrarán automaticamente por el IMMULITE 2000.

El resultado para una muestra es informado como “Indeterminado” si las cuentas por segundo para la muestra entran dentro del ±10% del cutoff. El resultado es informado como “Reactivo” si las cuentas de la muestra están sobre este rango indeterminado, y “No reactivo” si están por debajo del rango.

Interpretación de los resultados

El punto de corte del ensayo IMMULITE 2000 CMV IgM se determinó como reactivo y no reactivo mediante un análisis ROC con una consideración equilibrada entre sensibilidad y especificidad.

Un resultado **“Reactivo”** (ratio de ≥ 1,1) indica que los anticuerpos IgM frente a CMV se han detectado en la muestra del paciente.

Un resultado **“No reactivo”** (ratio de < 0,9) indica que los anticuerpos IgM frente a CMV no se han detectado en la muestra del paciente.

Cualquier resultado **“Indeterminado”** (ratio s/co entre 0,9 y < 1,1) debe volver a analizarse. Si las muestras todavían siguen dando un resultado “indeterminado” deben analizarse por un método alternativo, o debe tomarse una segunda muestra — si es posible — en un periodo de tiempo razonable (p.e, una semana).

La presencia de anticuerpos IgM para el virus de la CMV es indicativa de una exposición reciente al virus.

La magnitud de los resultados medidos (cps) por encima del valor de corte no son indicativos de la cantidad total de anticuerpos detectados.

Los resultados enviados por el laboratorio al médico deberían incluir lo siguiente: “Los siguientes resultados se han obtenido con el ensayo de CMV IgM IMMULITE 2000. No se pueden intercambiar con los valores obtenidos con los métodos de ensayo de otros fabricantes.”

Valores esperados

Individuos con una infección active por CMV tendrán valores detectables de anticuerpos IgM en el momento de la aparición de los síntomas. Los valores de anticuerpos IgM frente a CMV irán después disminuyendo y serán indetectables después de varios meses.

Limitaciones

Los resultados del análisis deben contemplarse en el contexto del historial clínico de los pacientes, de su sintomatología y de los demás hallazgos del laboratorio.

La presencia de una infección primaria, o una reactivación de una infección pasada, puede también ser determinada por el aislamiento del virus en cultivo de tejidos[3,9].

Para determinar la seroconversión de *no reactivo* a *reactivo*, deben utilizarse dos muestras de suero recogidas con un intervalo de 3–4 semanas, en las etapas aguda y convaleciente de la infección. La muestra de la fase aguda debe almacenarse y analizarse paralelamente a la muestra de la fase de convalecencia.

Las muestras que contengan anticuerpos antinucleares u otros anticuerpos anticélula pueden arrojar resultados de falsos reactivos.

También puede darse una elevación del nivel de anticuerpos CMV en pacientes con sarampión, virus varicela-zoster (VZV) o virus herpes simplex (HSV), debido a la reacción cruzada antigénica dentro de la familia herpesvirus. Los pacientes con infección EBV (virus Epstein-Barr) aguda pueden mostrar una reactividad elevada frente a otros virus, incluyendo el CMV.

Los resultados en pacientes infectados con el virus VIH, pacientes bajo una terapia inmunosupresiva, o en pacientes con otros desórdenes que causen inmunosupresión, deben interpretarse con precaución.

Las características de rendimiento de este ensayo no se han establecido para su uso con muestras de recién nacidos, sangre del cordón umbilical o pacientes pretrasplantados.

Los anticuerpos para IgG humana se han añadido a los reactivos para eliminar el IgG específico y los factores reumatoides que pueden originar resultados de falsos reactivo.

Los anticuerpos heterofílicos en el suero/plasma 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 expresaron como una relación señal cps/valor de corte. (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.)

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 “Precisión”.)

Especificidad: Se realizó un estudio para evaluar si la medición de anticuerpos IgM frente citomegalovirus se encuentra afectada por microorganismos relacionados de forma cercana. Se realizaron determinaciones de IgM CMV con el sistema IMMULITE 2000 en sueros que contenían anticuerpos frente al factor reumatoide (*n* = 10), sífilis (*n* = 10), *Toxoplasma* (*n* = 20), Epstein-Barr Virus (*n* = 10), varicella zoster virus (*n* = 10) y Rubola (*n* = 10). Sesenta y seis de 70 muestras dieron resultado no reactivo. Dos de 70 muestras (1 sífilis y 1 VZV) dieron resultado indeterminado, y 2 de 70 muestras (1 *Toxoplasma* y 1 EBV) dieron resultado positivo. Estas 4 muestras fueron analizadas de manera adicional por un ensayo IgM CMV comercialmente disponible de VIDAS y dieron 2 resultados equívocos (1 sífilis y 1 *Toxoplasma*) y dos resultados positivos confirmados (1 EBV y 1 VZV).

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina, en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Hemólisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 522 mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Lipemia: La presencia de triglicéridos en concentraciones hasta 3000 mg/dl no tiene efecto alguno en los resultados, en lo correspondiente a la precisión del ensayo.

Tipo de Muestra Alternativa: Para evaluar el efecto de los Tipos de Muestra Alternativa, se recogieron muestras de 40 voluntarios en en tubos normales, heparinizados, EDTA y tubos de plástico SST Becton Dickinson vacutainer. 10 de las muestras pareadas fueron sobrecargadas con varias concentraciones de CMV IgM, para obtener valores a lo largo de todo el rango de calibración del enasyo, y entonces fueron analizados por el procedimiento de CMV IgM IMMULITE 2000.

(Heparina) = 0,98 (Suero) – 0,024
r = 0,997

(EDTA) = 1,08 (Suero) – 0,055
r = 0,988

(SST) = 0,99 (tubos simples) – 0,020
r = 0,996

Medias:
0,75 (Suero)
0,79 (Heparina)
0,77 (SST)
0,74 (EDTA)

Rendimiento clínico: se evaluó el funcionamiento del ensayo IMMULITE 2000 CMV IgM en comparación con el de VIDAS CMV IgM (bioMerieux, Marcy d’Etoile, Francia). El estudio incluyó un total de 523 muestras de mujeres embarazadas,

pacientes trasplantados, y pacientes con enfermedades o condiciones con potencial reactividad cruzada; muestras remitidas para la determinación de serología de CMV; y muestras de paneles de seroconversión.

Analisis adicionales incluyendo las pruebas de inmunoblot CMV IgM/IgG y del virus de Epstein-Barr (EBV) fueron realizados (retrospectivamente) en muestras inicialmente identificadas como reactivas frente a CMV IgM. De las 116 muestras analizadas, 69 fueron identificadas como infección primaria de CMV, 13 como infección latente por CMV, 24 como infecciones por EBV primarias, latentes o reactivadas, y 10 como IgM CMV negativas.

La concordancia global de los resulados entre el IMMULITE 2000 y VIDAS se presenta en la tabla 1. Una comparación más detallada de los resultados de IMMULITE 2000 y VIDAS para las muestras con agentes con potencial reactividad cruzada se presenta en la tabla 2.

Tabla 1

	VIDAS									
	R			I			NR			
	IMMULITE 2000									
Tipo de muestra	R	I	NR	R	I	NR	R	I	NR	Total
Embarazadas	2	1	0	0	0	2	0	1	152	158
Pacientes trasplantados	29	0	1	1	0	1	0	0	5	37
Total CMV IgM negativos	0	1	5	1	0	3	0	0	130	140
Infección primaria por CMV	65	1	1	0	0	1	0	0	0	68
Infección latente por CMV	2	1	8	0	0	2	0	0	0	13
Panel de seroconversión BBI	5	0	0	0	0	0	0	0	10	15
Total	**103**	**4**	**15**	**2**	**0**	**9**	**0**	**1**	**297**	**431**
Reactividad Cruzada (Ver Tabla 2)	13	1	7	0	0	8	0	0	63	92
Overall Total	**116**	**5**	**22**	**2**	**0**	**17**	**0**	**1**	**360**	**523**

R = Reactivo
I = Indeterminado
NR = No reactivo

Todas las muestras excluyendo los casos de reactividad cruzada: Concordancia global: 92,8% (400/431); Concordancia positiva: 84,4% (103/122); Concordancia negativa: 99,7% (297/298)

Casos de embarazo:
Concordancia global: 97,5% (154/158);
Concordancia positiva: número insuficiente de muestras;
Concordancia negativa: 99,3% (152/153)

Casos de trasplante:
Concordancia global: 91,9% (34/37);
Concordancia positiva: 96,7% (29/30);
Concordancia negativa: 100% (5/5)

Casos de CMV primarios:
Concordancia global: 95,6% (65/68);
Concordancia positiva: 97,0% (65/67);
Concordancia negativa: número insufciente de muestras

Tabla 2: Reactividad cruzada

Estadio de la enfermedad	Total *n*	IMMULITE 2000	VIDAS
Factor Reumatoide (+)	36	34/36 no reactivo	34/36 no reactivo
Toxoplasma IgM* (+)	8	7/8 no reactivo	6/8 no reactivo
EBV* primaria, latente o reactivada	47	37/49 no reactivo	23/49 no reactivo

*Un paciente fue positivo para ambos: *Toxoplasma* IgM y EBV

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

IMMULITE 2000 CMV IgM

Domaine d'utilisation : Réservé à un usage diagnostic *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000 — dosage qualitatif des IgM anti-cytomégalovirus (CMV) dans le sérum humain ou le plasma (EDTA ou hépariné). Ce test constitue une aide à la

détermination d'une infection aigue à CMV.

Ce produit est autorisé au Canada à des fins diagnostiques. Il n'est pas autorisé pour la sélection des donneurs de sang.

Référence catalogue :
L2KCM2 (200 tests)

Code produit : **CMM**
Code couleur : **vert foncé**

Introduction

Le cytomégalovirus (CMV), de la famille des herpèsvirus, est un virus ubiquitaire. Des individus de tout âge sont susceptibles d'être infectés par contact sexuel, exposition direct à des liquides organiques contaminés, transfusion sanguine ou transplantation d'organe.[1,2,5,6] La majorité des infections sont asymptomatiques ; cependant, les infections à CMV peuvent être graves chez les nouveaux nés et les sujets immunodéprimés.[6,7] L'infection peut également être grave en cas de déficit immunitaire congénital ou acquis, comme c'est le cas pour les patients cancéreux, les transplantés ou les malades du SIDA.[5,6,8]

L'infection à CMV est l'une des infections congénitales les plus fréquentes, touchant entre 0,5 et 2,5% des nouveaux nés. 5% de ces derniers développeront une maladie classique d'inclusion cytomégalique, avec jaunisse, pneumonie et atteinte du système nerveux central. Les nourrissons infectés peuvent être asymptomatiques à la naissance, mais connaîtrent plus tard des désordres neurologiques.[3,4]

Entre 40 et 100% des individus ont des anticorps anti-CMV détectables,[9] avec la prévalence la plus élevée pour les pays en voie de développement. La présence d'anticorps anti-IgM est un indicateur fiable d'une infection active.

Principe du test

IMMULITE 2000 CMV IgM est un immunodosage chemiluminescent enzymatique, en phase solide. La phase solide (bille) est recouverte avec un antigène CMV inactivé, purifié (souche AD-169 provenant de lysats cellulaires infectés). La phase liquide comprend trois réactifs: 1) anticorps polyclonal de chèvre anti-IgG humaines dans un tampon, 2) anticorps polyclonal de chèvre anti-IgG humaines dans un tampon, et 3) phosphatase alcaline (intestins de veaux) conjuguée à un anticorps polyclonal de chèvre anti-IgM humaines dans un tampon.

Au cours du premier cycle, l'échantillon de patient et l'anticorps polyclonal de chèvre anti-IgG humaines sont incubés ensemble sans la bille pendant 30 minutes. Pendant ce temps, les anticorps anti-IgG bloquent les IgG de l'échantillon du patient.

Au cours du deuxième cycle, l'échantillon pré traité et l'anticorps polyclonal de chèvre anti-IgG humaines sont transférés dans le deuxième godet réactionnel. Les anticorps anti-IgG empêchent les IgG restants de l'échantillon de patient de se lier à l'antigène CMV fixé sur la bille. Pendant cette phase, les IgM spécifiques du CMV de l'échantillon se fixent sur l'antigène CMV de la bille. L'échantillon et le réactif non liés sont éliminés par lavages avec centrifugation.

Au cours du troisième cycle, l'enzyme conjuguée à un anticorps polyclonal de chèvre anti-IgM humaines est ajouté dans le deuxième godet réactionnel. L'enzyme conjuguée lie les IgM immobilisées pour former un complexe sandwich anticorps. Le conjugué enzymatique est éliminé par lavages avec centrifugation. Pour finir, le substrat chemiluminescent est ajouté dans le godet réactionnel et le signal généré est proportionnel à la quantité d'enzyme liée.

Cycles d'incubation : 3 × 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.

Les échantillons troubles ou présentant des particules en suspension devront être clarifiés par centrifugation à vitesse réduite.

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 IMMULITE 2000 CMV IgM 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 : 10 µl de sérum ou de plasma (EDTA ou hépariné)

Conditions de conservation : 3 jours à 2–8°C ou –20°C pendant 6 mois.[12]

Il n’est pas nécessaire de prédiluer les échantillons de patients.

Précautions d’emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.



AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL
Contient du matériel d’origine humaine. Chaque don de sang ou de composant sanguin humain a été testé selon des méthodes homologuées par la FDA afin de détecter la présence d’anticorps anti-virus de l’immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2), ainsi que la présence d’antigène de surface de l’hépatite B (HBsAg) et d’anticorps anti-virus de l’hépatite C (VHC). Les résultats de ces tests se sont révélés négatifs (ou positifs mais de façon non répétable). Aucun test ne peut garantir totalement l’absence d’agents infectieux tels que ceux-ci ou d’autres. Par conséquent, ce matériel doit être manipulé conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux précautions universelles.[13-15]

ATTENTION : Ce dispositif contient un matériau d’origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.



H319, H302 + H312, H412

P280, P264, P273, P305 + P351 + P338, P301 + P312, P302 + P312, P501

Avertissement !
Provoque une sévère irritation des yeux. Nocif en cas d'ingestion ou de contact cutané. Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/ un équipement de protection des yeux/ du visage. Se laver soigneusement les mains après manipulation. Éviter le rejet dans l’environnement. EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: Rincer avec précaution à l’eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. EN CAS D’INGESTION: Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. Éliminer les contenus et les contenants conformément à toutes les réglementations locales, régionales et nationales.
Contient : éthylène diamine tétraacétate de tétrasodium, acide aminocaproïque; Cartouche de réactif CMV IgM **Contient :** azide de sodium; Ajusteur CMV IgM, Contrôle CMV IgM

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-VHC et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

Les ajusteurs et contrôles fournis avec le coffret devront être parfaitement dissous après reconstitution. Une solution non homogène pourra entraîner une mauvaise reproductibilité des résultats.

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.

La bille est revêtue d'antigène CMV *inactivé*. Cependant, des particules virales actives ayant pu subsister, la prudence est recommandée lors de la manipulation ou de l'élimination de ces produits.

Substrat chimiluminescent : Éviter toute contamination 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 CMV IgM (L2CM12)
Avec code-barres. 200 billes revêtues d'antigène CMV inactivé, purifié (brin AD-169 extrait d'un lysat de cellules infectées). Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KCM2 : 1 cartouche

Cartouche de réactif CMV IgM (L2CMA2)
Avec code-barre. Le réactif A contient 17,5 ml d'une solution tamponnée avec un anticorps polyclonal de chèvre anti IgG humaine. Le réactif B contient 11,5 ml d'une solution tamponnée avec un anticorps polyclonal de chèvre anti IgG humaine. Le réactif C contient 11,5 ml d'une solution tamponnée de phosphatase alcaline (intestins de veau) conjuguée à un anticorps polyclonal de chèvre anti IgM humaine. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KCM2 : 1 cartouche

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.

Ajusteur CMV IgM (L2CMJ3)
Un flacon de sérum humain lyophilisé avec des IgM réactives à CMV, avec conservateur. Reconstituer avec **2,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Mélanger en imprimant un léger mouvement circulaire ou en retournant délicatement jusqu'à complète dissolution de la substance lyophilisée. (Aucune dilution supplémentaire n'est requise.) Stable à 2–8°C pendant 14 jours après reconstitution, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KCM2 : 1 flacon

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

Contrôle CMV IgM (LCMC1, LCMC2)
LCMC1 : (Contrôle négatif) : Un flacon de sérum humain lyophilisé avec des IgM non-réactives à CMV, avec conservateur.
LCMC2 : (Contrôle positif) : Un flacon de sérum humain lyophilisé avec des IgM réactives à CMV, avec conservateur. Reconstituer chaque flacon avec **2,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Mélanger en imprimant un léger mouvement circulaire ou en retournant délicatement jusqu'à complète dissolution de la substance lyophilisée. Stable à 2–8°C pendant 14 jours après reconstitution, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KCM2 : 1 jeu

Pour connaître la valeur de ratio contrôle actuelle, veuillez vous reporter à la notice d'emploi du contrôle.

Il n'est pas nécessaire de prédiluer les ajusteurs CMV IgM ni les contrôles CMV IgM.

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes 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 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 de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000.

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

Intervalle d'ajustement recommandé : 2 semaines

Contrôle de qualité : le ou les contrôles fournis avec le coffret devront être utilisés comme contrôle de qualité pour contrôler la performance du dosage.

Pour connaître la valeur de ratio contrôle actuelle, veuillez vous reporter à la notice d'emploi du contrôle.

Calcul du seuil et du ratio S/CO : Le seuil du dosage est déterminé avec des échantillons représentatifs afin d'obtenir la sensibilité et la spécificité optimales pour le dosage.

Le seuil est défini comme le nombre moyen de coups par seconde (cps) de l'ajusteur (provenant de l'ajustement le plus récent) multiplié par le « Curve Parameter 1. (Voir les champs « CPS Ajusteur bas » et « Paramètre 1(P1) » dans l'écran d'information de l'Immulite 2000 accessible par le menu « coffret »)

Le calcul du rapport Signal/Seuil utilise l'équation suivante :

$$\text{Rapport (S/CO)} = \frac{\text{cps Echantillon ou Contrôle}}{\text{cps moyen Ajusteur} \times \text{P1}}$$

Les résultats (réactif/non-réactif/ indéterminé) sont automatiquement calculés par l'IMMULITE 2000.

Le résultat d'un échantillon est « indéterminé » si le nombre de coups par seconde pour cet échantillon se situe à $\pm$10 % du seuil. Le résultat est « réactif » si le nombre de coups par seconde pour cet échantillon est supérieur à l'intervalle « indéterminé » et « non-réactif » s'il est inférieur à cet intervalle.

Interprétation des résultats

Le seuil du dosage IMMULITE 2000 CMV IgM a été déterminé avec des échantillons de patients négatifs et positifs par une analyse ROC et une prise en considération de l'équilibre entre spécificité et sensibilité.

Un résultat **« Réactif »** (ratio $\geq$ 1,1) indique que des anticorps IgM anti CMV ont été détectés dans le sérum du patient.

Un résultat **« Non-réactif »** (ratio $<$ 0,9) indique qu'aucun anticorps IgM anti CMV n'a été détecté dans le sérum du patient.

Tout échantillon **« Indéterminé »** (rapport entre 0,9 et $<$ 1,1) devra faire l'objet d'un nouveau test. Les échantillons qui demeureraient « indéterminés » devront être testés par une autre méthode, ou un autre prélèvement devra être réalisé — si possible — dans un délai raisonnable (une semaine, par exemple).

La présence d'IgM anti-CMV témoigne d'une exposition antérieure au virus.

L'amplitude de la réponse mesurée (en cps) au delà du seuil discriminant n'est pas corrélative de la quantité d'anticorps détectée.

Les résultats adressés par le laboratoire au médecin devront comporter la mention suivante : « Les résultats suivants ont été obtenus avec le dosage CMV IgM IMMULITE 2000. Les résultats obtenus avec d'autres procédés de dosage du marché ne doivent pas y être substitués. »

Valeurs de référence

Les personnes ayant une infection active à CMV montreront des taux détectables d'anticorps IgM à l'apparition des symptômes. Les taux d'anticorps IgM anti CMV déclineront par la suite pour devenir indétectables après plusieurs mois.

Limites

Les résultats doivent impérativement être interprétés dans le contexte de l'histoire clinique du patient, de la symptomatologie et d'autres données de laboratoire.

Une primo-infection ou la réactivation d'une infection antérieure devront être mises en évidence par isolement du virus à partir d'une culture tissulaire.[3,9]

Pour mettre en évidence une séroconversion *non-réactif/ réactif*, deux prélèvements devront être réalisés à trois ou quatre semaines d'intervalle au cours de la phase aiguë et de la phase de convalescence de l'infection. L'échantillon de phase aiguë devra être conservé et testé en parallèle de l'échantillon de convalescence.

Des échantillons contenant des anticorps anti-nucléaires ou d'autres anticorps anti-cellulaires pourront donner des réponses faussement réactives.

Une élévation du titre d'anticorps anti-CMV peut être observée chez des patients ayant contracté la rougeole, le virus varicelle-zona (VZV) ou l'herpès (HSV), en raison d'une réactivité croisée au sein de la famille des herpèsvirus. Les patients présentant une infection aiguë à EBV (virus Epstein-Barr) sont susceptibles de montrer une réactivité accrue pour d'autres virus, dont le CMV.

Les résultats obtenus pour des patients VIH^+, des patients suivant un traitement immunosuppresseur ou des patients ayant d'autres troubles conduisant à une immunosuppression, devront être interprétés avec prudence.

Les performances de ce dosage ne sont pas connues pour des échantillons provenant de sang de cordon, de nouveaux nés ou de pré-transplantés.

Des anticorps anti-IgG humaines ont été ajoutés aux réactifs pour éliminer les IgG spécifiques et les facteurs rhumatoïdes susceptibles de donner des réponses faussement réactives.

Les anticorps hétérophiles du serum/plasma 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 de ce test. Les résultats sont exprimés sous forme d'un ratio signal/ seuil discriminant valant.
(En l'absence d'indication contraire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques recueillis en tubes, sans gel ni activateur de la coagulation.)

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 replicatas au total. (Voir le tableau « Precision ».)

Spécificité : Une étude a été réalisée afin d'évaluer si la mesure des IgM anti cytomegalovirus est affectée par la présence de microorganismes apparentés. Des sérums contenant des anticorps de facteur rhumatoïde (*n* = 10), syphilis (*n* = 10), *Toxoplasmose* (*n* = 20), Virus Epstein-Barr (*n* = 10), varicella zoster virus (*n* = 10) and Rubéole (*n* = 10) ont été testés avec le dosage IMMULITE 2000 CMV IgM. 66 de ces 70 échantillons ont donné des résultats non-réactifs. 2 des ces 70 échantillons (1 syphilis et 1 VZV) ont donné des résultats indéterminés et 2 de ces 70 échantilllons (1 toxoplasmose et 1 EBV) a donné un résultat positif. Ces 4 échantillons ont aussi été testés avec un

kit disponible dans le commerce, CMV IgM VIDAS, et ont donné 2 résultats équivoques (1 syphilis et 1 toxoplasmose), et 2 résultats confirmés positifs (1 EBV et 1 Varicelle Zona).

Bilirubine : La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage 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 522 mg/dl.

Lipémie : La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 3000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

Autres types d'échantillons : Pour estimer l'effet de l'utilisation de différents type d'échantillons, 40 volontaires ont été prélevés sur tubes secs, héparinés, EDTA et sur tubes en plastique vacutainer SST Becton Dickinson. 10 de ces divers échantillons ont été chargés à plusieurs concentrations avec du sérum contenant des CMV IgM puis dosés avec le protocole IMMULITE 2000 CMV IgM.

(Héparine) = 0,98 (Sérum) – 0,024
r = 0,997

(EDTA) = 1,08 (Sérum) – 0,055
r = 0,988

(SST) = 0,99 (tubes ordinaires) – 0,020
r = 0,996

Moyennes :
0,75 (Sérum)
0,79 (Héparine)
0,77 (SST)
0,74 (EDTA)

Performance clinique : Les études cliniques ont évaluées les performances du test IMMULITE 2000 CMV IgM en comparaison avec le test VIDAS CMV IgM (bioMerieux, Marcy l'Etoile, France). L'étude a inclus un total de 523 échantillons de femmes enceintes, de patients transplantés et de patients présentant des maladies ou des situations pouvant donner des réactions croisées ; des échantillons provenant de demandes de routine de sérologie du CMV ; et des échantillons de panels de séroconversion.

Une analyse plus poussée incluant un immunoblot CMV IgM/IgG et une recherche de virus d'Epstein-Barr (EBV) a été réalisée sur les échantillons initialement (rétrospectivement) identifiés comme réactifs en CMV IgM. Sur les 116 échantillons testés, 69 ont été identifiés comme des infections primaires à CMV, 13 comme des infections latentes à CMV, 24 comme des infections à EBV primaires, latentes ou réactivées, et 10 ont été considérés comme CMV IgM négatifs.

La concordance globale entre l'IMMULITE 2000 et le VIDAS est présentée dans le Tableau 1. Des comparaisons plus détaillées des résultats IMMULITE 2000 et VIDAS pour les échantillons avec des agents potentiellement source de réactions croisées sont indiiquées dans le Tableau 2.

Tableau 1

	VIDAS									
	R			I			NR			
	IMMULITE 2000									
Type échantillon	R	I	NR	R	I	NR	R	I	NR	Totale
Femmes enceintes	2	1	0	0	0	2	0	1	152	158
Patients transplantés	29	0	1	1	0	1	0	0	5	37
Totale CMV IgM négatif	0	1	5	1	0	3	0	0	130	140
Infection primaire à CMV	65	1	1	0	0	1	0	0	0	68
Infection latente à CMV	2	1	8	0	0	2	0	0	0	13
panels BBI de séroconversion	5	0	0	0	0	0	0	0	10	15
Totale	**103**	**4**	**15**	**2**	**0**	**9**	**0**	**1**	**297**	**431**
Réactions croisées (voir Tableau 2)	13	1	7	0	0	8	0	0	63	92
Totale général	**116**	**5**	**22**	**2**	**0**	**17**	**0**	**1**	**360**	**523**

R = Réactif
I = Indéterminé
NR = Non-réactif

Pour tous les échantillons à l'exclusion des cas de réactions croisées : concordance globale : 92,8% (400/431) ; concordance pour les positifs : 84,4% (103/122) ; concordance pour les négatifs : 99,7% (297/298)

Cas des femmes enceintes :
concordance globale : 97,5% (154/158) ; concordance pour les positifs : nombre insuffisant d'échantillons ; concordance pour les négatifs : 99,3% (152/153)

Cas des transplantés :
concordance globale : 91,9% (34/37) ; concordance pour les positifs : 96,7% (29/30) ; concordance pour les négatifs : 100% (5/5)

Cas des infections primaires à CMV :
concordance globale: 95,6% (65/68) ;
concordance pour les positifs : 97,0% (65/67) ;
concordance pour les négatifs : nombre insuffisant d'échantillons

Tableau 2: Réactions croisées

Maladie, contexte	Totale *n*	IMMULITE 2000	VIDAS
Facteur rhumatoïde (+)	36	34/36 non-réactif	34/36 non-réactif
Toxoplasmose IgM* (+)	8	7/8 non-réactif	6/8 non-réactif
Infection à EBV primaire, latente ou réactivation*	47	37/49 non-réactif	23/49 non-réactif

*Un patient était positif à la fois pour la Toxoplasmose IgM et l'EBV

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

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

Italiano

IMMULITE 2000 CMV IgM

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE 2000 — per la determinazione qualitativa degli anticorpi IgM Anti-citomegalovirus (CMV) in siero umano o plasma (EDTA o eparinizzato) quale ausilio nella determinazione di un'infezione acuta da CMV.

Codice: **L2KCM2** (200 test)

Codice del Test: **CMM**
Colore: **verde scuro**

Riassunto e spiegazione del Test

Il Citomegalovirus (CMV), rientra all'interno della famiglia degli Herpes virus ed ha diffusione mondiale. Gli esseri umani di tutte le età sono suscettibili e l'infezione si diffonde attraverso rapporti sessuali, esposizione diretta ai fluidi corporei infetti, trasfusioni di sangue, ed trapianti di organi.[1,2,5,6] La maggior parte delle infezioni sono asintomatiche; comunque, le infezioni da CMV possono essere gravi nei neonati e negli individui immunocompromessi.[6,7] L'infezione può essere grave anche in pazienti con difetti immunocellulari congeniti o acquisiti, inclusi pazienti affetti da cancro, pazienti trapiantati ed affetti da AIDS.[5,6,8]

Il CMV è l'infezione congenita più comune, infettando tra lo 0,5 ed il 2,5% dei neonati. Il cinque percento di questi sviluperanno la classica malattia citomegalica con itterizia, polmonite e malattie del sistema nervoso centrale. I neonati infetti possono essere asintomatici alla nascita, ma possono sviluppare in seguito problemi neurologici.[3,4]

Tra il 40% ed il 100% delle persone presentano anticorpi rilevabili,[9] con un tasso più elevato nei paesi in via di sviluppo. La presenza di anticorpi IgM è un'indice affidabile della presenza di un'infezione attiva.

Principio del procedimento

IMMULITE 2000 CMV IgM è un dosaggio immunometrico in fase solida, a tre fasi, in chemiluminescenza, marcato con enzima. La fase solida (sferetta) è coattata con un antigene CMV purificato ed inattivato (catena AD-169 da lisati di cellule infette). La fase liquida è costituita da tre reagenti: 1) anticorpo policlonale di capra anti IgG umane in tampone 2) anticorpo policlonale di capra anti IgG umane in tampone e 3) fosfatasi alcalina (intestino bovino) coniugata con un anticorpo policlonale di capra anti IgM umane in tampone.

Nel primo ciclo, il campione del paziente e l'anticorpo policlonale di capra anti IgG umane sono messi in incubazione insieme senza sferetta per 30 minuti. Durante questo periodo gli anticorpi anti-IgG bloccano i IgG dal campione del paziente.

Nel secondo ciclo, il campione pretrattato e l'anticorpo policlonale di capra anti IgG umane vengono aggiunti alla seconda provetta di reazione. Gli anticorpi anti IgG bloccano i rimanenti IgG del campione dal legarsi all'antigene CMV sulla sferetta. Durante questo periodo, gli anticorpi IgM specifici anti-citomegalovirus (CMV) nel campione si legano all'antigene CMV sulla sferetta. Il campione non legato ed il reagente vengono quindi eliminati attraverso un lavaggio a centrifuga.

Nel terzo ciclo, l'anticorpo anti-IgM umane coniugato con l'enzima policlonale di

capra viene aggiunto alla seconda provetta di reazione. L'enzima coniugato si lega all'IgM immobilizzato per formare un complesso di anticorpi tipo "sandwich".

L'enzima coniugato non legato viene eliminato per centrifugazione. Infine, viene aggiunto il substrato chemiluminescente alla provetta di reazione e il segnale generato è proporzionale all'enzima legato.

Cicli d'incubazione: 3 × 30 minuti

Raccolta dei campioni

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

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

I campioni che sono opaci o che hanno materiali particolati devono essere chiarificati da centrifuga a bassa velocità.

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

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. IMMULITE 2000 CMV IgM non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Il volume richiesto: 10 µL siero o plasma (EDTA o eparinizzate)

Conservazione: 3 giorni a 2–8°C o –20°C per 6 mesi.[12]

Per i campioni dei pazienti non è necessaria la prediluizione.

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.



ATTENZIONE! POTENZIALE PERICOLO BIOLOGICO
Contiene materiale di origine umana. Ciascuna donazione di sangue o componenti ematici umani è stata testata con metodi approvati dalla FDA per rilevare la presenza di anticorpi al virus dell'immunodeficienza umana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2), nonché per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e gli anticorpi al virus dell'epatite C (HCV). I risultati del test sono stati negativi (non ripetutamente reattivi). Nessun test offre assicurazione completa che questi o altri agenti infettivi siano assenti; questo materiale va trattato utilizzando le corrette prassi di laboratorio e le precauzioni universali.[13-15]

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale portatore e trasmettitore di agenti patogeni.



H319, H302 + H312, H412

P280, P264, P273, P305 + P351 + P338, P301 + P312, P302 + P312, P501

Avvertenza! Provoca grave irritazione oculare. Nocivo se ingerito o a contatto con la pelle. Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. Lavare accuratamente le mani dopo l'uso. Non disperdere nell'ambiente. IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: Sciacquare accurata-mente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. IN CASO DI INGESTIONE: In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. Smaltire il prodotto e il contenitore in conformità con tutte le

	disposizioni locali, regionali e nazionali. **Contiene:** tetraacetato di tetrasodio etilendiammina, acido aminocaproico; Porta Reagente CMV IgM **Contiene:** sodio azide; Calibratore CMV IgM, Controlli CMV IgM

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'antigeno superficiale dell'epatite B; e per anticorpi all'epatite C.

Il calibratore ed il controllo forniti con il kit devono essere dissolti completamente dopo la ricostituzione. La mancata omogeneità della soluzione può provocare cattiva riproducibilità dei risultati.

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.

La sferetta è coattata con antigene CMV *inattivato*.Tuttavia, si consiglia di essere prudenti durante il dosaggio e l'eliminazione dei rifiuti a causa dell'eventuale presenza del virus.

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 CMV IgM (L2CM12)
Con codice a barre. 200 sferette coattate con un antigene CMV purificato ed inattivato (catena AD-169 da lisati di cellule infette). Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KCM2: 1 Confezione

Porta Reagente CMV IgM (L2CMA2)
Con codice a barre. Il Reagente A contiene 17,5 mL di una soluzione tampone con un anticorpo policlonali di capra anti-IgG umane in un tampone. Il Reagente B contiene 11,5 mL di una soluzione tampone con un anticorpo policlonali di capra anti-IgG umane, in un tampone. Il Reagente C contiene 11.5 mL di fosfatasi alcalina (intestino bovino) coniugata con un anticorpo policlonale di capra anti IgM umane in un tampone. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KCM2: 1 Porta Reagente

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.

Calibratore CMV IgM (L2CMJ3)
Una fiala contiene il siero umano liofilizzato con IgM reattive al CMV, con conservanti. Ricostituire con **2,0 mL** di acqua distillate o deionizzata. Mescolare agitando delicatamente o capovolgendo la miscela finché il materiale liofilizzato sia completamente dissolto. (Non è necessaria ulteriore diluizione.) Stabile a 2–8°C per 14 giorni dopo la ricostituzione, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KCM2: 1 flacone

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

Controlli CMV IgM (LCMC1, LCMC2)
LCMC1: (Controllo negativo): Un flacone contenente siero umano liofilizzato con anticorpi IgM non-reattivi al CMV, con conservanti. **LCMC2: (Controllo positivo):** Un flacone contenente siero umano liofilizzato con anticorpi IgM reattivi al CMV, con conservanti. Ricostituire ogni fiala con **2,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Mescolare agitando delicatamente o invertendo la miscela finchè il materiale liofilizzato sia completamente dissolto. Stabile a 2–8°C per 14 giorni dopo la ricostituzione, e per

6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KCM2 1 set

Per le gamme attuali del rapporto di controllo, fare riferimento all'inserimento informativo del controllo.

Non è necessaria la prediluizione per il Calibratore CMV IgM e per i Controlli CMV IgM.

Prima di eseguire i calibratori o i controlli ricalibrare collocare le etichette giuste sulle aliquote (fornite col kit) sulle provette 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; controlli

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Recommended Adjustment Interval:
2 settimana

Campioni per il controllo di qualità:
E' consigliabile utilizzare i controlli forniti con il kit come materiale per il controllo di qualità al fine di monitorare le prestazioni del dosaggio.

Per i range del controllo, fare riferimento alla metodica del controllo stesso.

Calcolo del Cutoff e del Rapporto S/CO:
Il Cutoff del dosaggio è stato determinato da campioni rappresentativi per raggiungere una sensibilità ed una specificità ottimali per il dosaggio.

Il cutoff viene stabilito uguale alle conte medie per secondo (cps medio) del calibratore (dalla calibrazione più recente), moltiplicato per il Parametro 1 della Curva (Vedere i campi "CPS del calibratore Basso" ed "Il Parametro 1 della Curva" sullo schermo dell'IMMULITE 2000 accessibile dal menu attraverso Data Entry: Kit Entry [Immissione dati: immissione kit]).

Il calcolo del rapporto segnale/cutoff (s/co) è effettuato utilizzando la seguente formula:

$$\text{Rapporto S/CO} = \frac{\text{cps Campione o Controllo}}{\text{cps Calibratore Medio} \times \text{P1}}$$

Il calcolo ed il report dei risultati qualitativi (reattivi / non reattivi / indeterminato) sono gestiti automaticamente dall'IMMULITE 2000.

Il risultato per un campione è "indeterminato" se i cps del campione rientrano entro ±10% del valore di cutoff. Il risultato è "reattivo" se i cps del campione sono superiori al range indeterminato, e "non reattivo" se sono inferiori al range.

Interpretazione dei risultati

Il cutofff del dosaggio IMMULITE 2000 CMV IgM è stato determinato con campioni reattivi e non reattivi attraverso un'analisi ROC con una considerazione bilanciata della sensibilità e della specificità.

Un risultato **"Reattivo"** (rapporto ≥ 1,1) indica che sono stati individuati nel campione del paziente anticorpi IgM anti-CMV.

Un risultato **"Non reattivo"** (rapporto < 0,9) indica che non sono stati individuati nel campione del paziente anticorpi IgM anti-CMV.

Qualsiasi risultato **"Indeterminato"** (rapporto s/co tra 0,9 e < 1,1) deve essere testato di nuovo. I campioni che producono un risultato "indeterminato" devono essere testati con un metodo alternativo, o deve essere prelevato un secondo campione – se possibile – entro un periodo ragionevole (p.e. una settimana).

La presenza di anticorpi IgM anti virus della CMV è indicativa dell'esposizione recente al virus.

L’ordine di grandezza dei risultati ottenuti (cps) superiore al valore di cutoff non è indicativo della quantità totale di anticorpi rilevati.

I risultati comunicati dal laboratorio al medico devono includere quanto segue: “I seguenti risultati sono stati ottenuti con la prova IMMULITE 2000 CMV IgM. I valori ottenuti dai metodi utilizzati nelle prove di altri fabbricanti non possono esssere intercambiati.”

I valori attesi

Individui con un’infezione attiva da CMV presenteranno livelli rilevabili di anticorpi IgM al presentarsi dei sintomi. I livelli di anticorpi IgM anti CMV diminuiranno conseguentemente fino a diventare non rilevabili dopo diversi mesi.

Limitazioni

I risultati del dosaggio devono essere considerati nel contesto dell’anamnesi e della sintomatologia del paziente e di altre informazioni fornite dal laboratorio.

La presenza di un’infezione primaria, o la riattivazione di un’infezione passata, può anche essere determinate dall’isolamento del virus in una coltura tissutale.[3,9]

Per la determinazione della sieroconversione da *non reattivo* a *reattivo*, è consigliabile prelevare due campioni di siero a distanza di tre o quattro settimane durante la fase acuta e la fase di convalescenza dell’infezione. Il campione della fase acuta deve essere conservato ed analizzato in parallelo con il campione della fase di convalescenza.

I campioni che contengono anticorpi antinucleo o altri anticorpi anticellulari possono produrre risultati erroneamente reattivo.

Può verificarsi un aumento nei livelli di anticorpi anti-CMV in pazienti affetti da morbillo, virus della varicella-zoster (VZV) o virus dell'herpes simplex (HSV) dovuta alla crossreattività antigenica all'internod della famiglia di virus dell'Herpes. E' possibile che pazienti con infezione acuta da EBV (Epstein-Barr Virus) possano mostrare una reattività maggiore verso altri virus, incluso il CMV.

I risultati nei pazienti HIV, in pazienti che subiscono una terapia immunosoppressiva, o in pazienti con malattie che portano alla immunosoppressione devono essere interpretati con prudenza.

Le caratteristiche delle prestazioni di questo dosaggio con campioni neonatali, sangue del cordone ombelicale, o pazienti pretrapianto non sono state ancora stabilite.

Gli anticorpi anti-IgG umane sono stati aggiunti ai reagenti per rimuovere le IgG specifiche ed il fattore reumatoide che potrebbero causare risposte erroneamente reattive.

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero/plasma umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi *in vitro*. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34: 27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedi tabelle grafici per i dati *rappresentativi* delle prestazioni del dosaggio. I risultati sono espressi come il rapporto segnale-al-limite. (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.)

Precisione: I campioni sono stati elaborati in doppio da 20 giorni, due esecuzioni al giorno, per un totale di 40 esecuzioni e 80 ripetizioni. (Vedere la tabella “Precisione”.)

Specificità: E' stato condotto uno studio per valutare se la determinazione degli anticorpi IgM anti-citomegalovirus venga interessato da microrganismi strettamente correlati. I sieri contenenti gli anticorpi anti fattore reumatoide (*n* = 10), sifilide (*n* = 10), *Toxoplasma* (*n* = 20), Epstein-Barr Virus (*n* = 10), varicella zoster virus (*n* = 10) ed Rubella (*n* = 10) sono stati testati con l'IMMULITE 2000 CMV IgM. Sessantasei dei 70 campioni hanno prodotto risultati non reattivi. Due dei 70 campioni (1 sifilide e 1 VZV) hanno prodotto risultati indeterminati, e 2 dei 70 campioni (1 *Toxoplasma* ed 1 EBV) hanno prodotto risultati positivi. Questi 4 campioni sono stati ulteriormente testati utilizzando il VIDAS con un dosaggio per il CMV IgM disponibile in commercio ed hanno prodotto 2 risultati equivoci (1 per la sifilide ed 1 per il *Toxoplasma*), e 2 risultati confermati positivi (1 per l'EBV ed 1 per il VZV).

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

Emolisi: La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 522 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

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

Tipo di Campione Alternativo: per determinare l'effetto di Tipi di Campione Alternativi, è stato prelevato del sangue da 40 volontari in provette semplici, eparinizzate, EDTA e Becton Dickinson SST e provette vacutained di plastica. A 10 dei campioni misti sono stati aggiunte varie concentrazioni di CMV IgM per ottenere valori lungo tutto il range di calibrazione del dosaggio e quindi dosato con l'IMMULITE 2000 CMV IgM.

(Eparina) = 0,98 (Siero) – 0,024
r = 0,997

(EDTA) = 1,08 (Siero) – 0,055
r = 0,988

(SST) = 0,99 (tubi semplici) – 0,020
r = 0,996

Valore medio:
0,75 (Siero)
0,79 (Eparina)
0,77 (SST)
0,74 (EDTA)

Prestazioni Cliniche: Le indagini cliniche hanno valutato le prestazioni del dosaggio degli anticorpo IgM anti-CMV IMMULITE 2000 a confronto con gli anticorpo IgM anti-CMV VIDAS (bioMerieux, Marcy d'Etoile, Francia). Lo studio comprendeva un totale di 523 campioni di donne in stato di gravidanza, pazienti di trapianti e pazienti con malattie o condizioni cross-reattive, campioni sottoposti a test sierologici di routine e campioni provenienti da pannelli di siero-conversione.

Un'ulteriore analisi che ha incluso i test immunoblot degli anticorpo IgM/IgG del CMV e del virus di Epstein-Barr (EBV) è stata eseguita su campioni inizialmente (in via retrospettiva) identificati come reagenti agli anticorpo IgM del CMV. Dei 116 campioni testati, 69 sono stati identificati come infezioni primarie da CMV, 13 come infezioni da CMV latenti, 24 come infezioni primarie, latenti o riattivate da EBV, e 10 si sono rivelate come negativa agli anticorpi IgM del CMV.

Le concordanze totali raggiunte tra IMMULITE 2000 e VIDAS sono presentate nella Tabella 1. Altri confronti dettagliati tra i risultati IMMULITE 2000 e VIDAS per i campioni con agenti pontenzialmente cross-reattivi sono presentati nella Tabella 2.

Tabella 1

	VIDAS									
	R			I			NR			
	IMMULITE 2000									
Tipo campione	R	I	NR	R	I	NR	R	I	NR	To-tale
Gravidanza	2	1	0	0	0	2	0	1	152	158
Pazienti di trapianto	29	0	1	1	0	1	0	0	5	37
Totalmente negativi ai IgM anti CMV	0	1	5	1	0	3	0	0	130	140
Infezione primaria da CMV	65	1	1	0	0	1	0	0	0	68
Infezione latente da CMV	2	1	8	0	0	2	0	0	0	13
Pannelli di sieroconversione e BBI	5	0	0	0	0	0	0	0	10	15
Totale	**103**	**4**	**15**	**2**	**0**	**9**	**0**	**1**	**297**	**431**
Cross-reattivo (vedi Tabella 2)	13	1	7	0	0	8	0	0	63	92
Totale generale	**116**	**5**	**22**	**2**	**0**	**17**	**0**	**1**	**360**	**523**

R = Reattivi
I = Indeterminato
NR = Non reattivi

Tutti i campioni esclusi i casi cross-reattivi:
Concordanza totale 92,8% (400/431);
Concordanza positiva: 84,4% (103/122);
Concordanza negativa: 99,7% (297/298)

Casi di donne gravide:
Concordanza totale 97,5% (154/158);
Concordanza positiva: numero di campioni insufficiente;
Concordanza negativa 99,3% (152/153)

Casi di trapianti:
Concordanza totale 91,9% (34/37);
Concordanza positiva: 96,7% (29/30);
Concordanza negativa: 100% (5/5)

Casi di nfezione primaria da CMV
Concordanza totale 95,6% (65/68);
Concordanza positiva: 97,0% (65/67);
Concordanza negativa: numero di campioni insufficiente

Tabella 2 Cross-reattivi

Stato malattia	Totale *n*	IMMULITE 2000	VIDAS
Fattore Reumatoide (+)	36	34/36 non reattivi	34/36 non reattivi
IgM* anti-*Toxoplasma* (+)	8	7/8 non reattivi	6/8 non reattivi
EBV* primario, latente o reattivato	47	37/49 non reattivi	23/49 non reattivi

*Un paziente era positivo sia agli IgM anti-*Toxoplasma* che all'EBV

Assistenza Tecnica

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

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

IMMULITE 2000 CMV IgM

Utilização: Para uso em diagnóstico *in vitro* os Analisadores dos Sistemas IMMULITE 2000 — para a detecção qualitativa de anticorpos IgM para o citomegalovirus (CMV) em soro ou plasma (EDTA ou heparinizado) humano, como auxiliar na determinação de uma infecção aguda por CMV.

Números de catálogo:
L2KCM2 (200 testes)

Código do teste: **CMM** Cor: **Verde escuro**

Sumário e explicação do teste

O Citomegalovirus (CMV), um membro da familia dos herpes virus está presente por todo o mundo. Seres humanos de todas as idades são susceptiveis e a infecção propaga-se através de contacto sexual, exposição directa a fluidos corporais infectados, transfusões sanguineas e transplante de órgãos[1,2,5,6] A maioria das infecções são assintomáticas; contudo as infecções por CMV podem ser graves em recém nascidos e indivíduos imuno-comprometidos.[6,7] A infecção pode também ser grave em doentes com defeitos de imunidade celular congénita ou adquirida, incluindo doentes com carcinomas, receptores de órgãos e doentes com SIDA.[5,6,8]

CMV é a infecção congenita mais comum, infectando entre 0,5 e 2,5% dos recém nascidos. 5% destes desenvolverão doenças clássicas provocadas por CMV como icterícia, pneumonia e desordens do sistema nervoso central. Bebés infectados podem ser assintomáticos à nascença, mas mais tarde desenvolver problemas neurológicos.[3,4]

Entre 40 e 100% da população tem anticorpos detectáveis,[9] com uma maior prevalência em países em desenvolvimento. A presença de anticorpos IgM é indicadora de uma infecção activa.

Princípio do Procedimento

O IMMULITE 2000 CMV IgM é um imunoensaio quimioluminescente, marcado por enzima, em fase sólida, em três estágios. A fase sólida (pérola) está recoberta com antígeno CMV inativado, purificado (linhagem AD-169 de lisado de células infectadas). A fase líquida consiste de três reagentes 1) anticorpo policlonal de cabra anti IgG humano em tampão, 2) anticorpo policlonal de cabra anti IgG humano em tampão, 3) fosfatase alcalina (de intestino de bezerro) conjugada ao

anticorpo policlonal anti IgM humano em tampão.

Em um primeiro ciclo, a amostra de paciente e o anticorpo policlonal de cabra anti IgG humano são incubados em conjunto sem a pérola por 30 minutos. Durante este período, os anticorpos anti-IgG bloqueiam o IgG da amostra do paciente.

Em um segundo ciclo, a amostra pré tratada e o anticorpo policlonal de cabra anti IgG humano são transferidos á um segundo tubo de reação.Os anticorpos IgG bloqueiam o IgG remanescente da amostra do paciente de ligar- se ao antígeno CMV da pérola. Durante este período, o IgM específico para o CMV na amostra liga-se ao antígeno CMV da pérola. A amostra e o reagente não ligados são então removidos por uma lavagem por centrifugação.

No terceiro ciclo, a enzima conjugada ao anticorpo policlonal de cabra anti IgM humano é adicionada ao segundo tubo de reação. A enzima conjugada liga-se ao IgM imobilizado para formar o complexo tipo sanduíche. O conjugado enzimático não ligado é removido por lavagem por centrifugação. Finalmente o substrato quimioluminescente é adicionado ao tubo de reação e o sinal gerado é proporcional à enzima ligada.

Ciclos de incubação: 3 × 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.

Amostras que estiverem turvas ou possuírem material em partículas devem ser clarificadas através de centrifugação de baixa velocidade.

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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 CMV IgM não foram ainda testados com todas as possiveis 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: 10 µL de soro ou plasma (EDTA ou heparinizados)

Estabilidade: 3 dias a 2–8°C, ou estável por 6 meses a –20°C.[12]

Não é necessária prediluição para amostras de doentes.

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.



PRECAUÇÃO! POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO
Contém material de origem humana. Cada dádiva de sangue ou componente de sangue humano foi testada pelos métodos aprovados pela FDA quanto à presença de anticorpos dos vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e tipo 2 (VIH-2), bem como do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e dos anticorpos do vírus da hepatite C (VHC). Os resultados dos testes foram negativos (não repetidamente reativos). Nenhum teste oferece total garantia de que estes ou outros agentes infeciosos estejam ausentes; este material deve ser manuseado de acordo com as boas práticas laboratoriais e precauções universais.[13-15]

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.



H319, H302 + H312, H412

P280, P264, P273, P305 + P351 + P338, P301 + P312, P302 + P312, P501

Aviso! Provoca irritação ocular grave. Nocivo por ingestão ou contacto com a pele. Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. Usar luvas de protecção/ vestuário de protecção/ protecção ocular/ protecção facial. Lavar cuidadosamente as mãos após manuseamento. Evitar a libertação para o ambiente. SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar. EM CASO DE INGESTÃO: Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. Eliminar o conteúdo e o recipiente em conformidade com todos os regulamentos locais, regionais e nacionais.
Contém: etilenodiamino-tetracetato tetrassódico, ácido aminocapróico; Embalagem de Reagente de CMV IgM
Contém: azida de sódio; Ajuste CMV IgM, Controlos de CMV IgM

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 antigénio de superfície da hepatite B (HBsAg) e para os anticorpos do vírus da hepatite C.

O(s) Ajuste(s) e Controlo(s) fornecidos com o kit devem estar completamente dissolvidos após a reconstituição. A não homogeneidade da solução pode resultar numa deficiente capacidade de reprodução dos resultados.

A azida sódica foi adicionada como conservante a concentrações inferiores a 0,1 g/dL. Quando eliminar o produto, utilize água em abundância para evitar a acumulação de azidas metálicas potencialmente explosivas nas canalizações de chumbo e cobre.

A esfera é revestida com antigénio de CMV *inactivado*. Contudo, deve-se ter cuidado ao trabalhar, ou rejeitar os materiais que são fornecidos, devido à possível presença residual de vírus.

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 CMV IgM (L2CM12)
Com código de barras. Contém 200 esferas revestidas com antigénio CMV purificado e inactivado (estirpe AD-169 de lisado de células infectadas). Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KCM2: 1 embalagem

Embalagem de Reagente de CMV IgM (L2CMA2)
Com código de barras. Reagente A contendo 17,5 mL de uma solução tampão com IgG anti-humano policlonal de carneiro. Reagent B contendo 11,5 mL de uma solução tampão com IgG anti-humano policlonal de carneiro. Reagente C contendo 11,5 mL de fosfatase alcalina (intestino bovino) conjugada com anticorpo IgM policlonal anti-humano de carneiro, tamponada. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KCM2: 1 embalagem

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.

Ajuste CMV IgM (L2CMJ3)
Um frasco com soro humano liofilizado com IgM reactivo a CMV, com conservante. Reconstituir com **2,0 mL** de água destilada ou desionizada. Misture por inversão ou movimentos lentos até o material liofilizado dissolver completamente. (Diluição adicional não é necessária.) Estável, após a reconstituição, durante 14 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KCM2: 1 frasco

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.

Controlos de CMV IgM (LCMC1, LCMC2)
LCMC1: (Controlo Negativo): Um frasco com soro humano liofilizado com IgM não reactivo com CMV, com conservante.
LCMC2: (Controlo Positivo): Um frasco com soro humano liofilizado com IgM reactivo com CMV, com conservante.
Reconstitua cada frasco com **2,0 mL** de água destilada ou desionizada. Misture por inversão ou movimentos lentos até o material liofilizado dissolver completamente. Estável, após a reconstituição, durante 14 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KCM2: 1 conjunto

Para os valores actuais de proporção de controlo, consulte o folheto incluso de Controlo.

Não é necessária prediluição para Ajustes CMV IgM e Controlos CMV IgM.

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

Componentes do kit fornecidos separadamente

L2SUBM: Substrato quiomioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Kit de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)

Também necessário
Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos

Procedimento de doseamento

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

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

Recommended Adjustment Interval:
2 semanas

Amostras de Controlo de Qualidade:
O(s) controlo(s) fornecido(s) com o kit devem ser utilizados como material de controlo de qualidade para monitorizar o desempenho do doseamento.

Consulte o folheto incluso para os valores da razão do controlo sobre o Cutoff.

Calculo do Cutoff e da razão Amostra/CO: O Cutoff do ensaio foi determinado a partir de amostras representativas de modo a obter-se uma sensibilidade e especificidade óptima.

O valor do Cutoff é igual à média das contagens por segundo (média de cps) do Ajuste (do ajuste mais recente) multiplicado pelo parâmetro 1 da curva. (Veja os campos "CPS do Ajuste Baixo" e "Parâmetro 1 da Curva" no ecrã de Informação do kit IMMULITE 2000, a que pode aceder-se no menu pela Entrada de Dados: Entrada do Kit)

O calculo da razão sinal da amostra/CO é feita usando a seguinte fórmula:

$$\text{Razão S/CO} = \frac{\text{cps da amostra ou control}}{\text{cps Média ajuste} \times \text{P1}}$$

Os cálculos qualitativos (reativo / não reativo / indeterminados) são efectuados automáticamente pelo IMMULITE 2000.

O resultado da amostra é “indeterminado” se os cps da amostra estiverem no intervalo de ±10% do valor do cutoff. O resultado é “reativo” se os cps da amostra forem superiores ao intervalo em que se considera indeterminado, e “não reativo” se forem inferiores.

Interpretação dos resultados

O cutoff do ensaio IMMULITE 2000 CMV IgM foi determinado com amostras de doentes reactivos e não-reactivos, mediante uma análise ROC tendo em conta uma consideração equilibrada da sensibilidade e da especificidade.

Um resultado **“Reativo”** (razão de ≥ 1,1) indica que anticorpos IgM anti CMV foram detectados na amostra do paciente.

Um resultado **“Não reativo”** (razão de < 0,9) indica que anticorpos IgM anti CMV não foram detectados na amostra do paciente.

Qualquer razão s/co entre 0,9 e 1,1) deve ser testado novamente. Amostras que voltem a apresentar um resultado **“indeterminado”** devem ser examinadas por um método alternativo, ou uma segunda amostra deve ser colhida, se possível, dentro de um período razoável de tempo (por exemplo, uma semana).

A presença de anticorpos IgM para o vírus da CMV é uma indicação de exposição recente ao vírus.

A magnitude dos resultados medidos (cps) acima do Cutoff não é indicativa da quantia total dos anticorpos detectados.

Os resultados enviados pelo laboratório ao médico devem incluir: “Os seguintes resultados foram obtidos com o doseamento de IMMULITE 2000 CMV IgM. Os valores obtidos de métodos de doseamentos de outros fabricantes não podem ser usados em permutação.”

Valores de Referência

Individuos com infecção activa por CMV devem exibir niveis detectáveis de anticorpo IgM aquando do inicio dos sintomas. Os níveis de anticorpos IgM para o CMV irão decrescendo e serão indetectáveis após alguns meses.

Limitações

Os resultados dos testes devem ser avaliados dentro do contexto da história clínica do doente, sintomatologia e outros resultados laboratoriais.

A presença de uma infecção primária, ou reactivação de uma infecção anterior, pode também ser determinada pelo isolamento do vírus em cultura celular.[3,9]

Para a determinação da sero-conversão (de não reactivo a reactivo), devem ser colhidas duas amostras de soro com 3 ou 4 semanas de intervalo durante as fases aguda e de convalescença da infecção. A amostra da fase aguda deve ser armazenada e testada em paralelo com a amostra de convalescença.

As amostras que contém anticorpos anti-nucleares ou outros anticorpos anticelulares podem ter resultados falso reactivo.

Um aumento no nível de anticorpos de CMV pode ocorrer em pacientes com sarampo, vírus da varicela-zoster (VZV), ou vírus da herpes simplex (HSV) devido à reactividade cruzada antigénica dentro da família de herpesvírus. Pacientes com infecção EBV aguda (Epstein-Barr Virus) podem mostrar maior reactividade a outros vírus, incluindo CMV.

Os resultados em doentes de HIV, em doentes em terapia imunosupressora, ou em doentes com outras doenças que levam à imunosupressão, devem ser interpretados com cuidado.

As características do desempenho deste doseamento não foram estabelecidas para uso com amostras neonatais, sangue do cordão, ou doentes de pré-transplante.

Anticorpos para IgG humana foram adicionados aos reagentes para remover IgG específico e factores reumatóides que podem causar respostas falsamente reativas.

Os anticorpos heterófilicos no soro/plasma humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes no ensaio, causando interferência com os imunoensaios *in vitro*. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34:27-33.] Amostras de doentes expostas em rotina a produtos ou soros de animais podem demonstrar este tipo

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

Características do Ensaio

Consulte Tabelas e Gráficos para dados representativos do desempenho do doseamento. Os resultados são expressos numa proporção de sinal-para-interruptor. (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.)

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 “Precisão”.)

Especificidade: Foi realizado um estudo para avaliar até que ponto o doseamento de anticorpos de citomegalovirus IgM é afectado por microorganismos relacionados. Soro contendo anticorpos para o factor reumatóide (*n* = 10), sifilis (*n* = 10), *Toxoplasma* (*n* = 20), Epstein-Barr Virus (*n* = 10), varicela zoster virus (*n* = 10) e Rubeola (*n* = 10) foram testados com IMMULITE 2000 CMV IgM. Sessenta e seis de 70 amostras deram resultados não reactivos. Duas de 70 amostras (1 sifilis e 1 VZV) deram resultados indeterminados, e 2 de 70 (1 *Toxoplasma* e 1 EBV) deram resultados positivos. Estas 4 amostras foram testadas com o ensaio de CMV IgM do sistema VIDAS, dando 2 resultados equívocos (1 sifilis e 1 *Toxoplasma*), e confirmando 2 resultados positivos (1 EBV e 1 VZV).

Bilirrubina: A presença de bilirrubina em concentrações até 200 mg/L não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Hemólise: A presença de hemoglobina em concentrações até 522 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipémia: A presença de triglicéridos em concentrações até 3000 mg/dL não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Tipo de amostra alternativa: Para testar o efeito de tipos de amostras alternativas, foi colhido sangue de 40 voluntários em tubos secos, em tubos com heparina, EDTA e tubos de plástico vacutainer da Becton Dickinson SST. A 10 destas amostras foram adicionados vários niveis de anticorpos CMV IgM para se obterem valores ao longo da gama de calibração do ensaio e testados com o IMMULITE 2000 CMV IgM.

(Heparina) = 0,98 (Soro) – 0,024
r = 0,997

(EDTA) = 1,08 (Soro) – 0,055
r = 0,988

(SST) = 0,99 (tubos simples) – 0,020
r = 0,996

Médias:
0,75 (Soro)
0,79 (Heparina)
0,77 (SST)
0,74 (EDTA)

Desempenho clínico: Investigações clínicas avaliaram a performance do ensaio IMMULITE 2000 CMV IgM em comparação ao VIDAS CMV IgM (BioMerieux, Marcy d’Etoile, França). O estudo incluiu um total de 523 amostras de mulheres grávidas, pacientes transplantados, e pacientes com doenças de reações cruzadas em potencial ou condições; amostras submetidas para sorologia de rotina de teste de CMV, e amostras de painéis de soroconversão.

Análises posteriores incluindo o imunoblot, e teste do vírus Epstein Barr (EBV) foram realizadas em amostras inicialmente (retrospectivamente) identificadas como reatívas ao CMV IgM. das 116 amostras testadas, 69 foram identificadas como infecção primária de CMV, 13 como infecção latente de CMV, 24 como primária, latente ou reativa à infecção de EBV, e 10 foram avaliadas como negativas ao CMV IgM.

A concordância de avaliação global entre IMMULITE 2000 e VIDAS está apresentada na Tabela 1. Maiores detalhes da comparação entre os resultados de IMMULITE 2000 e VIDAS para amostras com agentes de potencial para reações cruzadas estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 1

	VIDAS									
	R			I			NR			
	IMMULITE 2000									
Tipo de Amostra	R	I	NR	R	I	NR	R	I	NR	Total
Gravidez	2	1	0	0	0	2	0	1	152	158
Pacientes transplantados	29	0	1	1	0	1	0	0	5	37
Total CMV IgM negativo	0	1	5	1	0	3	0	0	130	140
Infecção primária por CMV	65	1	1	0	0	1	0	0	0	68
Infecção latente por CMV	2	1	8	0	0	2	0	0	0	13
Painéis de soroconversão BBI	5	0	0	0	0	0	0	0	10	15
Total	**103**	**4**	**15**	**2**	**0**	**9**	**0**	**1**	**297**	**431**
Reações–cruzadas (ver Tabela 2)	13	1	7	0	0	8	0	0	63	92
Global	**116**	**5**	**22**	**2**	**0**	**17**	**0**	**1**	**360**	**523**

R = Reactivo
I = Indeterminado
NR = Não reactivo

Todas as amostras excluindo casos de reações cruzadas: Concordância Total: 92,8% (400/431); Concordância Positiva: 84,4% (103/122); Concordância Negativa: 99,7% (297/298)

Casos de Grávidas:
Concordância Total: 97,5% (154/158);
Concordância Positiva: número insuficiente de amostras;
Concordância Negativa: 99,3% (152/153)

Casos de transplantes:
Concordância Total: 91,9% (34/37);
Concordância Positiva: 96,7% (29/30);
Concordância Negativa: 100% (5/5)

Casos de CMV primário:
Concordância Total: 95,6% (65/68);
Concordância Positiva: 97,0% (65/67);
Concordância Negativa: número insuficiente de amostras

Tabela 2: Reações Cruzadas

Estado da Doença	Total *n*	IMMULITE 2000	VIDAS
Fator Reumatóide (+)	36	34/36 não reactivo	34/36 não reactivo
Toxoplasma IgM* (+)	8	7/8 não reactivo	6/8 não reactivo
EBV Primário, latente ou reativado *	47	37/49 não reactivo	23/49 não reactivo

* Um paciente estava positivo para ambos *Toxoplasma* IgM e EBV

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE is a trademark of Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2019 Siemens Healthcare Diagnostics. All rights reserved.

Made in: UK

Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

CE 0197

2019-06-12

PIL2KCM – 19

cc#EU23606, cc#EU23606A

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol Definition

IVD

En: *In vitro* diagnostic medical device
De: Medizinisches Gerät zur *In-vitro* Diagnose
Es: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
Fr: Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
It: Dispositivo medico per diagnostica *in vitro*
Pt: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

REF

En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo

En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante

EC REP

En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia

Symbol Definition

CE

En: CE Mark
De: CE-Kennzeichen
Es: Marca CE
Fr: Marque CE
It: Marchio CE
Pt: Marca CE

CE XXXX

En: CE Mark with identification number of notified body
De: CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle
Es: Marca CE con número de identificación del organismo notificado
Fr: Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié
It: Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato
Pt: Marca CE, com número de identificação do organismo notificado



En: Consult instructions for use
De: Bedienungshinweise beachten
Es: Consulte las instrucciones de uso
Fr: Consulter le mode d'emploi
It: Consultare le istruzioni per l'uso
Pt: Consulte as instruções de utilização

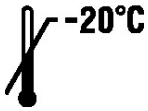


En: Caution! Potential Biohazard
De: Vorsicht! Biologisches Risikomaterial
Es: ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial
Fr: Avertissement ! Risque biologique potentiel
It: Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico
Pt: Atenção! Potenciais Riscos Biológicos



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

Symbol Definition



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



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



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



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



En: Keep away from sunlight
De: Vor Sonneneinstrahlung schützen
Es: Proteger de la luz solar
Fr: Maintenir hors de portée de la lumière du soleil
It: Non esporre alla luce del sole
Pt: Manter afastado da luz solar



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

Symbol Definition



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

2008-01

En: Date format (year-month)
De: Datumsformat (Jahr-Monat)
Es: Formato de fecha (año-mes)
Fr: Format de la date (année-mois)
It: Formato data (anno-mese)
Pt: Formato de data (ano-mês)



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



En: Health Hazard
De: Gesundheitsgefährdung
Es: Peligro para la salud
Fr: Dangereux pour la santé
It: Pericolo per la salute
Pt: Perigo para a saúde



En: Exclamation Mark
De: Ausrufezeichen
Es: Signo de exclamación
Fr: Point d'exclamation
It: Punto esclamativo
Pt: Ponto de exclamação



En: Corrosion
De: Korrosion
Es: Corrosión
Fr: Corrosion
It: Corrosione
Pt: Corrosão



En: Skull and Crossbones
De: Totenkopf mit gekreuzten Knochen
Es: Calavera y tibias cruzadas
Fr: Tête de mort sur tibias croisés
It: Teschio e tibie incrociate
Pt: Caveira sobre tíbias cruzadas



En: Environment
De: Umwelt
Es: Medio ambiente
Fr: Environnement
It: Ambiente
Pt: Ambiente

Symbol	Definition
BEAD PACK	**En:** Bead Pack **De:** Kugel-Container **Es:** Cartucho de bolas **Fr:** Cartouche de billes **It:** Contenitore di biglie **Pt:** Embalagem de esferas
TEST UNIT	**En:** Test Unit **De:** Testeinheit **Es:** Unidades de análisis **Fr:** Unité de test **It:** Test Unit **Pt:** Unidades de Teste
REAG WEDGE REAG WEDGE A REAG WEDGE B REAG WEDGE D	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste

Symbol	Definition
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL CONTROL 1 CONTROL 2 CONTROL 3	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo

Symbol	Definition
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

Estradiol

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 Estradiol

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the quantitative measurement of estradiol (estradiol-17β, E2) in serum, as an aid in the differential diagnosis of amenorrhea, and monitoring of ovulation induction with and without stimulation in assisted reproductive technology (ART).

Catalog Number: **L2KE22** (200 tests), **L2KE26** (600 tests)
Test Code: **E2** Color: **Dark Pink**

Summary and Explanation

Estradiol is a steroid hormone with a molecular mass of 272.3 daltons which circulates predominantly protein-bound. In addition to estradiol, other natural steroidal estrogens include estrone, estriol and their conjugates. Estrogens are hormones secreted principally by the ovarian follicles and also by the adrenals, corpus luteum, placenta and, in males, by the testes.

Estrogenic hormones are secreted at varying rates during the menstrual cycle throughout the period of ovarian activity. The gonadotropins of the anterior pituitary regulate secretion of the ovarian hormones, estradiol and progesterone; hypothalamic control of pituitary gonadotropin production is in turn regulated by plasma concentrations of the estrogens and progesterone. This complex feedback system results in the cyclic phenomenon of ovulation and menstruation.

During pregnancy, the placenta becomes the main source of estrogens. At the menopause, ovarian secretion of estrogens declines at varying rates.

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 Estradiol is a solid-phase, enzyme-labeled chemiluminescent competitive immunoassay. The solid phase (bead) is coated with polyclonal rabbit anti-estradiol antibody. The liquid phase consists of alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to estradiol.

The patient sample and the reagent are incubated together with the coated bead for 60 minutes. During this time, estradiol in the sample competes with enzyme conjugated estradiol in the reagent for a limited number of antibody binding sites on the bead. Unbound patient sample and enzyme conjugate are then removed by centrifugal washes. Finally, chemiluminescent substrate is added to the reaction tube containing the bead and the signal is generated in proportion to the bound enzyme.

Incubation Cycles: 1 × 60 minutes
Time to First Result: 65 minutes

Specimen Collection

Lipemia may interfere with the assay. 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 Estradiol 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: 25 µL serum

Storage: 2 days at 2–8°C, or 2 months at –20°C.[18]

Dilution: It is recommended that patient samples yielding results greater than 1200 pg/mL be diluted and reassayed. A clinically relevant result is obtained without dilution but the most accurate value is obtained when tested on the sensitive portion of the curve.

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.



CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD
Contains human source material. Each donation of human blood or blood component was tested by FDA-approved methods for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) as well as for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis C virus (HCV). The test results were negative (not repeatedly reactive). No test offers complete assurance that these or other infectious agents are absent; this material should be handled using good laboratory practices and universal precautions.[20-22]

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.

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.

Estradiol Bead Pack (L2E212)
With barcode. 200 beads, coated with polyclonal rabbit anti-estradiol. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KE22: 1 pack **L2KE26:** 3 packs

Estradiol Reagent Wedge (L2E2A2)
With barcode. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to estradiol, in buffer with preservative. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KE22: 1 wedge **L2KE26:** 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.

Estradiol Adjustors (LE2L, LE2H)
Two vials (Low and High), 2 mL each, of estradiol in processed human serum, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KE22: 1 set **L2KE26:** 2 sets

Before running adjustors, 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

Estradiol Sample Diluent (L2E2Z)
For the on-board dilution of patient samples. One vial containing 25 mL of concentrated (ready-to-use) processed human serum (with preservative) containing undetectable to low levels of estradiol. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2E2Z: 25 mL

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.
L2E2Z: 3 labels

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate
L2PWSM: Probe Wash
L2KPM: Probe Cleaning Kit
LRXT: Reaction Tubes (disposable)
L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

E2TC: Estradiol Control (single level)

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 Systems Operator's Manual.

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

Recommended Adjustment Interval:
2 weeks

Quality Control Samples Follow government regulations or accreditation requirements for quality control frequency.

Use controls or serum pools with at least two levels (low and high) of estradiol.

Siemens Healthcare Diagnostics recommends the use of commercially available quality control materials with at least 2 levels (low and high). A satisfactory level of performance is achieved when the analyte values obtained are within the Acceptable Control Range for the system, or within an established range determined by an appropriate internal laboratory quality control scheme.

Expected Values

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

Reference ranges were generated using IMMULITE Estradiol in a multi-national study involving women in apparent good health (age: 16–44 years), who volunteered to have blood samples drawn, on a daily basis, throughout one complete ovulatory cycle. (See “Menstrual Cycle Graph.”)

		Estradiol, pg/mL	
Ovulatory Cycles	*n**	Median	Central 95%
Follicular Phase	54 (708)	42	ND–160
Follicular Phase, Days 2 to 3	54 (108)	31	ND–84
Periovulatory, ± 3 days	54 (378)	133	34–400
Luteal Phase	54 (604)	93	27–246

*Number of subjects (total number of results)

		Estradiol, pmol/L	
Ovulatory Cycles	*n**	Median	Central 95%
Follicular Phase	54 (708)	154	ND–587
Follicular Phase, Days 2 to 3	54 (108)	114	ND–308
Periovulatory, ± 3 days	54 (378)	489	124–1468
Luteal Phase	54 (604)	343	101–905

*Number of subjects (total number of results)

Another study performed with IMMULITE Estradiol yielded the following results.

		Estradiol, pg/mL		
Group	*n*	Mean	Median	90% Range
Adult males	50	30.5	29.7	ND–56
Adult females:				
Untreated Postmenopausal	27	ND	ND	ND–30
Treated Postmenopausal	27	ND	ND	ND–93
Oral Contraceptives	61	35.2	24.5	ND–102

ND: not detectable

		Estradiol, pmol/L		
Group	*n*	Mean	Median	90% Range
Adult males	50	112	109	ND–206
Adult females:				
Untreated Postmenopausal	27	ND	ND	ND–110
Treated Postmenopausal	27	ND	ND	ND–341
Oral Contraceptives	61	129	90	ND–374

ND: not detectable

Pediatric: Reference intervals for the pediatric population (children and adolescents) were established for the IMMULITE Estradiol assay in accordance with CLSI guideline EP28-A3C.[23] Samples were collected prospectively from apparently healthy pediatric subjects, using predefined inclusion criteria. Reference values were generated for subpopulations based on age and Tanner stage subgroups based on physiological development. The study was designed to establish reference values across genders, and to include approximately equal numbers of males and females within each age or Tanner stage subgroup. The subject's Tanner stage was assessed based on pubic hair and genitalia/breast development. The scale proposed by Neinstein and Kaufman was used for the determination of the Tanner stages.[24]

The reference intervals and Tanner values are based on the central 90% (5th and 95th percentiles). Where sample sizes were insufficient to calculate the 5th or 95th percentile, the minimum or maximum observed values are presented in the Reference Intervals and Reference Values tables.

IMMULITE 2000/2000 XPi Estradiol Pediatric Reference Intervals

Male

Age (Years)	*n*	Median	Range
			pg/mL
2–3	10	< 20.0	< 20.0*–> 28.0†
4–9	57	< 20.0	< 20.0–41.9
10–13	119	< 20.0	< 20.0–34.7
14–21	117	26.9	< 20.0–59.2

Age (Years)	*n*	Median	Range
			pmol/L
2–3	10	< 73.4	< 73.4*–> 102.8†
4–9	57	< 73.4	< 73.4–53.9
10–13	119	< 73.4	< 73.4–127.3
14–21	117	98.7	< 73.4–217.4

Female

Age (Years)	*n*	Median	Range
		pg/mL	
2–3	17	< 20.0	< 20.0*–> 34.5†
4–9	44	20.9	< 20.0–40.7
10–11	55	27.5	< 20.0–176.0
12–21	162	60.0	< 20.0–235.2
Age (Years)	*n*	Median	Range
		pmol/L	
2–3	17	< 73.4	< 73.4*–> 126.6†
4–9	44	76.7	< 73.4–149.4
10–11	55	100.9	< 73.4–645.9
12–21	162	220.2	< 73.4–863.0

*Value presented is the minimum reportable value observed; insufficient sample size to calculate a 5th percentile limit.

† Value presented is the maximum value observed; insufficient sample size to calculate a 95th percentile limit.

IMMULITE 2000/2000 XPi Estradiol Pediatric Reference Values by Tanner Stage

Male

Tanner Stage	*n*	Median	Range
		µg/dL	
1	73	< 20.0	< 20.0–38.0
2	63	< 20.0	< 20.0–30.9
3	63	< 20.0	< 20.0–54.2
4	58	26.4	< 20.0–51.8
5	46	30.0	< 20.0–62.3
Tanner Stage	*n*	Median	Range
		µmol/L	
1	73	< 73.4	< 73.4–139.5
2	63	< 73.4	< 73.4–113.4
3	63	< 73.4	< 73.4–199.0
4	58	96.7	< 73.4–190.2
5	46	110.1	< 73.4–228.7

Female

Tanner Stage	*n*	Median	Range
		µg/dL	
1	72	< 20.0	< 20.0–54.2
2	46	34.3	< 20.0–177.2
3	64	47.5	< 20.0–203.5
4	46	56.7	< 20.0–227.5
5	50	89.7	< 20.0–363.5
Tanner Stage	*n*	Median	Range
		µmol/L	
1	72	< 73.4	< 73.4–199.1
2	46	125.7	< 73.4–650.3
3	64	174.1	< 73.4–746.8
4	46	207.9	< 73.4–834.7
5	50	329.0	< 73.4–1334.0

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

Limitations

Pregnancy Samples: Exercise caution when assaying pregnancy samples, since estriol levels may be high enough to interfere.

Neonatal Samples: The assay has not been validated for use on neonatal samples. Crossreacting steroids, including estriol, circulating at high concentrations during this period may cause spuriously elevated results.

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.

The drug Fulvestrant (FASLODEX®)* may cause falsely elevated estradiol results in immunoassays. For patients being treated with Fulvestrant, an alternate method that is not expected to show cross reactivity to Fulvestrant, such as Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS), should be used.

With the advent of new steroid based medications (analogues) with similar chemical structures to estradiol, there is the possibility of cross-reactivity and results inconsistent with the patients clinical history. For diagnostic purposes, the results should always be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examination and other findings. If the estradiol results are inconsistent with clinical evidence, additional testing is suggested to confirm the result.

* FASLODEX® is a registered trademark of AstraZeneca

Performance Data

See Tables and Graphs for data *representative* of the assay's performance. Results are expressed in pg/mL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Conversion Factor:
pg/mL × 3.671 → pmol/L

Reportable Range: 20 to 2000 pg/mL (73–7342 pmol/L)

The assay is traceable to an internal standard manufactured using qualified materials and measurement procedures.

Analytical Sensitivity: 15 pg/mL (55 pmol/L)

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.)

Precision Profile: In a series of studies involving 10 kit lots, samples spanning the working range were assayed in 10 or 20 replicates per run. (See "Precision Profile" graph.)

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

Recovery: Samples spiked 1 to 19 with three estradiol solutions (800, 1440 and 4020 pg/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antiserum was generated with estradiol derivative at 6- position, and is highly specific for estradiol. (See "Specificity" table.)

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

Biotin: Specimens that contain biotin at a concentration of 1500 ng/mL demonstrate a less than or equal to 10% change in results. Biotin concentrations greater than this may lead to incorrect results for patient samples.

Hemolysis: Presence of packed red blood cells in concentrations up to 30 µL/mL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 3000 mg/dL may interfere with the assay. (See "Lipemia" table.)

Alternate Sample Type: To assess the effect of alternate sample types, blood was collected from 33 volunteers into plain, heparinized, and Becton Dickinson SST® Vacutainer tubes. Equal volumes of the matched samples were spiked with various concentrations of estradiol, to obtain values throughout the calibration range of the assay, and then assayed by the IMMULITE 2000 Estradiol procedure.

(Heparin) = 0.98 (Serum) + 11 pg/mL
r = 0.996

(SST) = 0.98 (Plain Tubes) + 15 pg/mL
r = 0.994

Means:
476 pg/mL (Serum)
477 pg/mL (Heparin)
482 pg/mL (SST)

Method Comparison: The assay was compared to IMMULITE Estradiol on 97 samples. (Concentration range: approximately 20 to 1800 pg/mL. See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 0.90 (IML) + 18 pg/mL
r = 0.990

Means:
337 pg/mL (IMMULITE 2000)
354 pg/mL (IMMULITE)

References

1) Batzer F. Hormonal evaluation of early pregnancy. Fertil Steril 1980;34:1–13. 2) Bergquist C, Nillius SJ, Wide L. Human gonadotropin therapy: 1. Serum estradiol and progesterone patterns during conceptual cycles. Fertil Steril 1983;39:761–5. 3) Erickson GF. Normal ovarian function. Clin Obstet Gynecol 1978;21:31–52. 4) Garcia JE, Jones GS, Wright GL. Prediction of the time of ovulation. Fertil Steril 1981;36:308–15. 5) Gautray JP, et al. Clinical investigation of the menstrual cycle: 3. Clinical, endometrial, and endocrine aspects of luteal defect. Fertil Steril 1981;35:296–303. 6) Goebelsmann U, Mishell DR. The menstrual cycle. In: Mishell DR, Davajan V, editors. Reproductive endocrinology, infertility and contraception. Philadelphia: Davis FA, 1979: 67–89. 7) Goldstein D, et al. Correlation between estradiol and progesterone in cycles with luteal phase deficiency. Fertil Steril 1982;37:348–54. 8) Haning RV, et al. Plasma estradiol is superior to ultrasound and urinary estriol glucuronide as a predictor of ovarian hyperstimulation during induction of ovulation with menotropins. Fertil Steril 1983;40:31–6. 9) Judd HL, Korenman SG. Effects of aging on reproductive function in women. In: Korenman SG, editor. Endocrine aspects of aging. New York: Elsevier Biomedical, 1982:163–97. 10) Landgren BM, Aedo AR, Diczfalusy E. Hormonal changes associated with ovulation and luteal function. In: Flamigini C, Givens JR, editors. The gonadotropins: basic science and clinical aspects in females. London: Academic Press, 1982:187–201. 11) March CM, Goebelsmann U, Nakamura RM, Mishell DR. Roles of estradiol and progesterone in eliciting the midcycle luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone surges. J Clin Endocrinol Metab 1979;49:507–12. 12) Polan ML, et al. Abnormal ovarian cycles as diagnosed by ultrasound and serum estradiol levels. Fertil Steril 1982; 37:342–7. 13) Radwanska E, et al. Plasma progesterone and oestradiol estimation in the diagnosis and treatment of luteal insufficiency in menstruating infertile women. Acta Eur Fertil 1976;39–47. 14) Radwanska E, et al. Correlation between preovulatory serum estradiol and midluteal progesterone levels during induction of ovulation with clomid and HCG. J Reprod Med 1980; 24:79–82. 15) Rebar RW, Yen SSC. Endocrine rhythms in gonadotropins and ovarian steroids with reference to reproductive processes. In: Krieger, editor. Endocrine rhythms. New York: Raven Press, 1979: 259–98. 16) Robertson RD, et al. Assessment of ovulation by ultrasound and plasma estradiol determinations. Obstet Gynecol 1979; 54:686–90. 17) Siiteri PK, Febres F. Ovarian hormone synthesis, circulation, and mechanisms of action. In: DeGroot L, et al, editors. Endocrinology, vol 3. New York: Grune & Stratton, 1979:1401–17. 18) Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz textbook of clinical chemistry. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994.

19) 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. 20) Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. MMWR, 1988;37:377–82, 387–8. 21) Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3. 22) Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030. 23) Clinical and Laboratory Standards Institute. *Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Third Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010. CLSI Guideline EP28-A3C. 24) Neinstein LS and Kaufman FR, Chapter 1: Normal Physical Growth and Development in Neinstein L.S. *Adolescent Health Care: A Practical Guide*, 4th ed.

Technical Assistance

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

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

Precision (pg/mL)

		Within-Run[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	89	8.8	9.9%	14	16%
2	180	14	7.8%	19	11%
3	461	20	4.3%	31	6.7%
4	1309	84	6.4%	102	7.8%
5	1800	89	4.9%	127	7.1%

Linearity (pg/mL)

	Dilution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	8 in 8[5]	370	—	—
	4 in 8	204	185	110%
	2 in 8	92	93	99%
	1 in 8	43	46	93%
2	8 in 8	756	—	—
	4 in 8	394	378	104%
	2 in 8	193	189	102%
	1 in 8	97	95	102%
3	8 in 8	1849	—	—
	4 in 8	975	925	105%
	2 in 8	466	462	101%
	1 in 8	220	231	95%

Recovery (pg/mL)

	Solution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	—	208	—	—
	A	221	238	93%
	B	254	270	94%
	C	407	399	102%
2	—	273	—	—
	A	272	299	91%
	B	329	331	99%
	C	483	460	105%
3	—	614	—	—
	A	612	623	98%
	B	645	655	98%
	C	819	784	104%

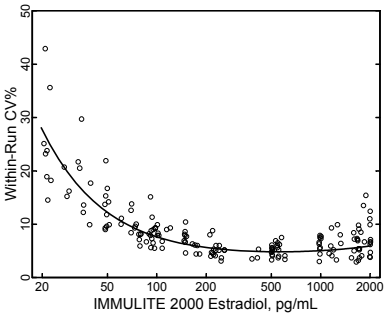
Specificity

Compound[1]	ng/mL Added[2]	% Cross-reactivity[3]
Androstenedione	100,000	0.0004%
Cortisol	100,000	0.000026%
DHEA	4000	0.0006%
17α-Estradiol	100	0.026%
17β-Estradiol-3-glucuronide-17-sulfate	50	0.038%
17β-Estradiol-3-sulfate	50	0.15%
5-Androstene-3β-17β-diol	100,000	0.00035%
	10,000	0.00082%
β-Estradiol-17-propionate	3.6	1.25%
β-Estradiol-3-sulfate-17-glucuronide	50	0.04%
β-Estradiol-17-valerate	3.6	1.14%
Estriol	20	0.81%
Estriol-3-sulfate	10,000	0.00053%
Estriol-3-glucuronide	1000	0.0018%
Ethiny-Estradiol	20	1.382%
	10	1.829%
Estrone	3.6	0.69%
Estrone-β-D-glucuronide	3.6	0.19%
Estrone-3-sulfate	3.6	ND
d-Equilenin	3.6	3.3%
Equilin	3.6	0.38%
Fulvestrant	20	0.31%*
Norgestrel	100	0.029%
	50	0.126%
Progesterone	100,000	ND
Raloxifene Hydrochloride	125	ND
Tamoxifen Citrate	125	ND
Testosterone	100,000	ND

ND: not detectable[4]

*Initial concentration of Estradiol was 21.6 pg/mL. A 286% change in concentration was observed.[5]

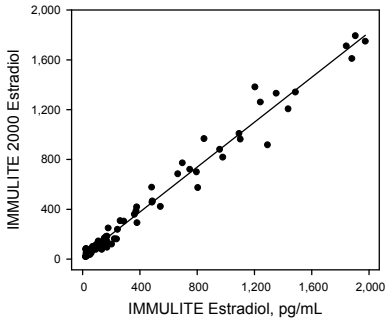
Precision Profile



Lipemia

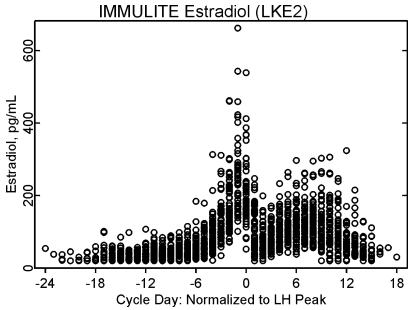
Sample	Triglycerides Added mg/dL	Observed	Expected	%O/E
1	—	194		
	250	189	191	99%
	500	178	189	94%
	1000	192	184	104%
	2000	153	175	87%
	3000	156	165	95%
2	—	275		
	250	277	271	102%
	500	288	268	107%
	1000	237	261	91%
	2000	216	248	87%
	3000	201	234	86%
3	—	327		
	250	348	323	108%
	500	312	319	98%
	1000	355	311	114%
	2000	371	294	126%
	3000	277	278	100%

Method Comparison



(IML 2000) = 0.90 (IML) + 18 pg/mL
r = 0.990

Menstrual Cycle Graph



Deutsch. **Precision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]S (Standardabweichung), [5]CV (Variationskoeffizient). **Linearity**: [1]Verdünnung, [2]Beobachtet (B), [3]Erwartet (E), [4]% B/E, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Lösung, [2]Beobachtet (B), [3]Erwartet (E), [4]% B/E. **Specificity**: [1]Verbindung, [2]zugesetzte Menge, [3]% Kreuzreaktivität, [4]NN: Nicht nachweisbar, [5]Die Initialkonzentration von Östradiol lag bei 21,6 pg/ml. Es wurde eine Konzentrationsveränderung von 286 % beobachtet. **Präzisionsprofil:** Intraassay CV%. **Method Comparison.** Estradiol: Östradiol. **Menstrual Cycle Graph.** Cycle Day: Normalized to LH Peak: Zyklustag: bezogen auf LH-Peak

Español. **Precision**: [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV. **Linearity**: [1] Dilución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 en 8. **Recovery**: [1]Solución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Specificity**: [1]Compuesto, [2] Cantidad añadida, [3]% Reacción cruzada, [4]ND: no detectable, [5]La concentración inicial de estradiol era de 21,6 pg/ml. Se observó un cambio en la concentración del 286%. **Precision Profile.** Dentro de una tanda CV%. **Method Comparison.** Estradiol: Estradiol. **Menstrual Cycle Graph.** Cycle Day: Normalized to LH Peak: Día del Ciclo: referido al pico de LH

Français. **Precision**: [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]SD, [5]CV. **Linearity**: [1]Dilution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A, [5]8 dans 8. **Recovery**: [1]Solution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A. **Specificity**: [1]Composé, [2]ajouté, [3]Réaction croisée%. [4]ND: non détectable, [5]La concentration initiale en estradiol était de 21,6 pg/ml. Un changement de concentration de 286 % a été observé. **Precision Profile.** Au sein d'une même série CV%. **Method Comparison.** Estradiol: Estradiol. **Menstrual Cycle Graph.** Cycle Day: Normalized to LH Peak: Jour du cycle normalise par rapport au pic de LH

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity**: [1]Diluizione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Soluzione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A. **Specificity**: [1]Composto, [2]quantità aggiunta, [3]Percentuale di Crossreattività, [4]ND: non determinabile, [5]La concentrazione iniziale dell'estradiolo era di 21,6 pg/mL. È stata osservata una variazione nella concentrazione del 286%. **Precision Profile.** Entro la stessa esecuzione CV%. **Method Comparison.** Estradiol: Estradiolo. **Menstrual Cycle Graph.** Cycle Day: Normalized to LH Peak: Ciclo Giornaliero: Normalizzato/i al Picco di LH

Português. **Precision**: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação. **Linearity**: [1]Diluição, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 em 8. **Recovery**: [1]Solução, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Specificity**: [1]Composto, [2]Quantidade adicionada, [3]Percentagem de reacção cruzada, [4]ND: não detectável, [5]A concentração inicial de Estradiol foi de 21,6 pg/mL. Foi observada uma alteração de 286% na concentração. **Precision Profile.** Entre ensaios CV%. **Method Comparison.** Estradiol: Estradiol. **Menstrual Cycle Graph.** Cycle Day: Normalized to LH Peak: Dia do Ciclo: Normalizado até Pico de LH.

Deutsch

Östradiol

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme — zur quantitativen Bestimmung von Östradiol (Östradiol-17β, E2) in Serum, als Hilfestellung in der Diagnose der Amenorrhoe und zur Beobachtung der unstimulierten und stimulierten Ovulationsinduktion im Rahmen der Fortpflanzungsmedizin.

Artikelnummern: **L2KE22** (200 Tests), **L2KE26** (600 Tests)
Testcode: **E2** Farbe: **Dunkelrosa**

Klinische Relevanz

Östradiol ist ein Steroidhormon (Molekulargewicht 272,3 D), das hauptsächlich in protein-gebundener Form im menschlichen Serum vorkommt. Zusätzlich finden sich im Blut noch andere natürliche Östrogene, wie z. B. Östron, Östriol und deren konjugierte Verbindungen.

Östrogene sind Hormone, die in erster Linie im Ovar produziert werden. Die Produktion kann aber auch in der Nebenniere, im Corpus Luteum und der Plazenta erfolgen. Männer produzieren Östrogene im Hoden. Östrogene werden während des Menstruationszyklus in unterschiedlichen Konzentrationen entsprechend der ovariellen Aktivität produziert. Die Gonadotropine der Adenohypophyse regulieren die Sekretion der ovariellen Hormone Östradiol und Progesteron. Die Hypothalamuskontrolle der Hypophysen-Gonadotropin-Ausschüttung wird mittels Rückkopplung durch die Plasmakonzentrationen der Östrogene und des Progesterons gesteuert. Dieses komplexe Rückkopplungssystem ist verantwortlich für den Zyklus von Ovulation und Menstruation.

Im Laufe der Schwangerschaft übernimmt die Plazenta weitgehend die Östrogenproduktion. In der Menopause wird die ovarielle Sekretion von Östrogenen entscheidend reduziert.

Methodik

IMMULITE 2000 Estradiol ist ein Festphasen- enzymmarkierter kompetitiver Chemilumineszenz-Immunoassay. Die Festphase (Kugel) ist mit einem anti-Östradiol-Antikörper (polyklonal, Kaninchen) beschichtet. Die Flüssigphase enthält alkalische Phosphatase (Rinderkalbsdarm), das an Östradiol konjugiert ist.

Die Patientenprobe und das Reagenz werden zusammen mit der beschichteten Kugel 60 Minuten lang inkubiert. Während dieser Zeit konkurriert Östradiol aus der Probe mit Enzym-konjugiertem Östradiol aus dem Reagenz um eine begrenzte Anzahl von Antikörperbindungsstellen auf der Kugel. Ungebundene Patientenprobe und Enzymkonjugat wird dann durch zentrifugales Waschen entfernt. Abschließend wird Chemilumineszenz-Substrat in das Reaktionsröhrchen, das die Kugel enthält, zugegeben und ein Messsignal, proportional zur Menge des gebundenen Enzyms, wird erzeugt.

Inkubationszyklen: 1 × 60 Minuten
Zeit zum ersten Ergebnis: 65 Minuten

Probengewinnung

Lipämie kann sich auf die Testergebnisse auswirken. Bei lipämischen Proben ist es empfehlenswert, die Fettanteile mittels Ultrazentrifuge zu trennen.

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 Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter Antikoagulantientherapie können eine verlängerte Gerinnungszeit aufweisen.

Blutentnahmeröhrchen von verschiedenen Herstellern können differierende Werte verursachen. Dies hängt von den verwendeten Materialien und Additiven (Gel oder physische Trennbarrieren, Gerinnungsaktivatoren und/oder Antikoagulantien) ab. IMMULITE 2000 Östradiol sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 25 µl Serum

Lagerung: 2 Tage bei 2–8°C oder 2 Monate bei –20°C.[18]

Verdünnung: Um möglichst präzise Ergebnisse zu erhalten, sollten Werte über 1200 pg/ml verdünnt und erneut bestimmt werden. Die unverdünnten gemessenen Werte sind klinisch korrekt, allerdings ergibt die beschriebene Vorgehensweise präzisere Werte.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *in vitro*-Diagnostik.



VORSICHT! BIOLOGISCHES RISIKOMATERIAL
Enthält Material humanen Ursprungs. Alle Blutspenden oder Blutkomponenten menschlicher Herkunft wurden nach FDA-genehmigten Methoden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die HI-Viren Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2) sowie von Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und Antikörpern gegen den Hepatitis C-Virus (HCV) getestet. Die Testergebnisse waren negativ (nicht wiederholt reaktiv). Durch keinen Test kann das Vorhandensein dieser oder anderer infektiöser Stoffe vollständig ausgeschlossen werden. Dieses Material ist mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und gemäß der allgemein anerkannten guten Laborpraxis zu handhaben.[20-22]

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.

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.

Östradiol Kugel-Container (L2E212)
Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit Östradiol-Antikörpern (polyklonal, Kaninchen). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KE22: 1 Container **L2KE26:** 3 Container

Östradiol – Reagenzbehälter (L2E2A2)
Mit Barcode. 11,5 ml alkalische Phosphatase (Kalb) konjugiert mit Östradiol, in einem Puffer, (mit Konservierungsmittel). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KE22: 1 Behälter **L2KE26:** 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.

Östradiol - Kalibratoren (LE2L, LE2H)
Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) mit 2 ml Östradiol in verarbeitetem Humanserum, (mit Konservierungsmittel). 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KE22: 1 Set
L2KE26: 2 Sets

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

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

Probenverdünnungsreagenz Östradiol - (L2E2Z)
Zur on-board Verdünnung von Proben hoher Konzentration. Ein Fläschchen konzentriertes (gebrauchsfertig) prozessiertes Humanserum (mit Konservierungsmittel), mit nicht-nachweisbarem Gehalt an Östradiolspiegel. 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2E2Z: 25 ml

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2E2Z: 3 Etiketten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße
L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm) für die Probenverdünnung
L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

E2TC: Östradiol-Kontrolle (eine Konzentration)

Ebenfalls benötigt:
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Röhrchen; Kontrollen

Testdurchführung

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

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

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
2 Wochen

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

Kontrollen oder Seren mit Östradiol in zumindest zwei Konzentrationen (niedrige und hohe) verwenden.

Siemens Healthcare Diagnostics empfiehlt die Verwendung von kommerziell verfügbaren Qualitätskontrollen in mindestens 2 Konzentrationen (niedrig und hoch). Der Systembetrieb gilt dann als zufriedenstellend, wenn die Analytwerte innerhalb des für das System zulässigen Kontrollbereichs oder des für die laborinternen Qualitätskontrollverfahren festgelegten zulässigen Bereichs liegen.

Referenzwerte

Basierend auf der Korrelation zum IMMULITE-Östradiol (siehe *Methoden-vergleich*), wurden die folgenden Referenzbereiche ermittelt.

Die Referenzwerte für normale Ovulationszyklen wurden in einer internationalen Multicenterstudie mit dem IMMULITE® Östradiol Assay an mehr als 50 Probanden ermittelt. Die gesunden Probandinnen waren zwischen 16 und 44 Jahre alt. Die Blutabnahme erfolgte täglich

während eines kompletten Zyklus. (Siehe Darstellung „Menstrual Cycle“.)

		Östradiol, pg/ml	
Ovualtionszyklen	*n**	Median	95 % Vertrauens-bereich
Follikelphase	54 (708)	42	n.n.–160
Follikelphase 2.–3. Tag	54 (108)	31	n.n.–84
Periovulation ± 3 Tage	54 (378)	133	34–400
Luteal-Phase	54 (604)	93	27–246

*Patientenzahl (Anzahl der Einzelproben)

		Östradiol, pmol/l	
Ovulationszyklen	*n**	Median	95 % Vertrauens-bereich
Follikelphase	54 (708)	154	n.n.–587
Follikelphase 2. – 3. Tag	54 (108)	114	n.n.–308
Periovulatory, ± 3 Tage	54 (378)	489	124–1468
Luteal-Phase	54 (604)	343	101–905

*Patientenzahl (Anzahl der Einzelproben)

In einer weiteren Studie des Herstellers mit dem IMMULITE-Östradiol Assay wurden folgende Referenzwerte ermittelt:

		Östradiol, pg/ml		
Gruppe	*n*	Mittel-wert	Median	90 %-Bereich
Männer	50	30,5	29,7	n.n.–56
Frauen				
Postmenopausal unbehandelt	27	n.n.	n.n.	n.n.–30
Postmenopausal behandelt	27	n.n.	n.n.	n.n.–93
Orale Kontrazeptiva	61	35,2	24,5	n.n.–102

n.n.: nicht nachweisbar

		Östradiol, pmol/l		
Gruppe	*n*	Mittel-wert	Median	90 % Bereich
Männer	50	112	109	n.n.–206
Frauen				
Postmenopausal unbehandelt	27	n.n.	n.n.	n.n.–110
Postmenopausal behandelt	27	n.n.	n.n.	n.n.–341
Orale Kontrazeptiva	61	129	90	n.n.–374

n.n.: nicht nachweisbar

Kinder: Die pädiatrischen Referenzbereiche (Kinder und Jugendliche) wurden in Übereinstimmung mit der CLSI-Richtlinie EP28-A3C für den IMMULITE Estradiol-Test festgelegt.[23] Dazu wurden Proben prospektiv von offensichtlich gesunden pädiatrischen Probanden entnommen, die unter Anwendung vordefinierter Einschlusskriterien ausgewählt wurden. Referenzwerte für Unterpopulationen wurden basierend auf dem Alter und den Tanner-Stadium-Untergruppen ermittelt, die wiederum auf der physiologischen Entwicklung basierten. Die Studie diente der Ermittlung von Referenzwerten für beide Geschlechter, wobei ungefähr dieselbe Anzahl von weiblichen und männlichen Probanden jeden Alters bzw. aus jeder Tanner-Stadium-Untergruppe in die Studie eingeschlossen werden sollten. Das Tanner-Stadium der Probanden wurde anhand der Schambehaarung sowie des Entwicklungsstadiums der Genitalien bzw. der Brust beurteilt. Die von Neinstein und Kaufman vorgeschlagene Skala wurde zur Bestimmung des Tanner-Stadiums verwendet.[24]

Die Referenzbereiche und die Tanner-Werte basieren auf einem Mittelwert von 90 % (5. und 95. Perzentil). Bei Probenmengen, die für eine Berechnung des 5. und 95. Perzentils unzureichend waren, werden die beobachteten Mindest- und Höchstwerte entsprechend den Referenzbereichen und Referenzwerten in den Tabellen aufgeführt.

IMMULITE 2000/2000 XPi Estradiol pädiatrische Referenzwerte

Männlich

Alter (in Jahren)	*n*	Median	Bereich
			pg/ml
2–3	10	< 20,0	< 20,0*–> 28,0†
4–9	57	< 20,0	< 20,0–41,9
10–13	119	< 20,0	< 20,0–34,7
14–21	117	26,9	< 20,0–59,2
Alter (in Jahren)	*n*	Median	Bereich
			pmol/l
2–3	10	< 73,4	< 73,4*–> 102,8†
4–9	57	< 73,4	< 73,4–53,9
10–13	119	< 73,4	< 73,4–127,3
14–21	117	98,7	< 73,4–217,4

Weiblich

Alter (in Jahren)	*n*	Median	Bereich
			pg/ml
2–3	17	< 20,0	< 20,0*–> 34,5†
4–9	44	20,9	< 20,0–40,7
10–11	55	27,5	< 20,0–176,0
12–21	162	60,0	< 20,0–235,2
Alter (in Jahren)	*n*	Median	Bereich
			pmol/l
2–3	17	< 73,4	< 73,4*–> 126,6†
4–9	44	76,7	< 73,4–149,4
10–11	55	100,9	< 73,4–645,9
12–21	162	220,2	< 73,4–863,0

*Der angegebene Wert entspricht dem beobachteten messbaren Mindestwert; Probenmenge zur Berechnung des 5. Perzentils unzureichend.

† Der angegebene Wert entspricht dem beobachteten messbaren Höchstwert; Probenmenge zur Berechnung des 95. Perzentils unzureichend.

IMMULITE 2000/2000 XPi Estradiol pädiatrische Referenzwerte nach Tanner-Stadium

Männlich

Tanner-Stadium	*n*	Median	Bereich
			µg/dl
1	73	< 20,0	< 20,0–38,0
2	63	< 20,0	< 20,0–30,9
3	63	< 20,0	< 20,0–54,2
4	58	26,4	< 20,0–51,8
5	46	30,0	< 20,0–62,3
Tanner-Stadium	*n*	Median	Bereich
			µmol/l
1	73	< 73,4	< 73,4–139,5
2	63	< 73,4	< 73,4–113,4
3	63	< 73,4	< 73,4–199,0
4	58	96,7	< 73,4–190,2
5	46	110,1	< 73,4–228,7

Weiblich

Tanner-Stadium	*n*	Median	Bereich
			µg/dl
1	72	< 20,0	< 20,0–54,2
2	46	34,3	< 20,0–177,2
3	64	47,5	< 20,0–203,5
4	46	56,7	< 20,0–227,5
5	50	89,7	< 20,0–363,5
Tanner-Stadium	*n*	Median	Bereich
			µmol/l
1	72	< 73,4	< 73,4–199,1
2	46	125,7	< 73,4–650,3
3	64	174,1	< 73,4–746,8
4	46	207,9	< 73,4–834,7
5	50	329,0	< 73,4–1334,0

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

Grenzen der Methode

Proben von Schwangeren: Bei der Austestung von Proben, die von Schwangeren gewonnen wurden, sollte berücksichtigt werden, daß die Östriol-Spiegel so hoch sein können, daß Interferenzen möglich sind.

Proben von Säuglingen: Der Assay ist nicht evaluiert zur Bestimmung von Östradiol-Spiegeln im Serum von Neugeborenen. Kreuzreagierende Steroidhormone z. B. Östriol, die während der Schwangerschaft in hohen Konzentrationen vorliegen, können falsch-erhöhte Werte hervorrufen.

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.

Das Medikament Fulvestrant (FASLODEX®)* kann zu falsch erhöhten Östradiol-Ergebnissen in Immunoassays führen. Werden Patienten mit Fulvestrant behandelt, sollte eine alternative Methode verwendet werden, bei der keine Kreuzreaktivität mit Fulvestrant erwartet wird, etwa Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie (LC-MS).

Aufgrund der Einführung neuer steroidbasierter Arzneimittel (Analoga), die ähnliche chemische Strukturen wie Östradiol aufweisen, besteht die Möglichkeit einer Kreuzreaktivität und von Ergebnissen, die nicht mit der Krankengeschichte des Patienten übereinstimmen. In der Diagnostik sollte das Ergebnis des Tests stets unter Berücksichtigung der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderer Ergebnisse bewertet werden. Sind die Estradiol-Ergebnisse nicht mit der klinischen Evidenz konsistent, sollten Sie zur Bestätigung der Ergebnisse weitere Tests durchführen.

* FASLODEX® ist eine eingetragene Marke von AstraZeneca

Leistungsdaten

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

Umrechnungsfaktor:
pg/ml × 3,671 → pmol/l

Messbereich: 20–2000 pg/ml (73–7342 pmol/l)

Die Methode ist rückführbar auf einen internen Standard, der mittels qualifizierter Materialien und Messmethoden hergestellt wurde.

Analytische Sensitivität: 15 pg/ml (55 pmol/l)

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Test-ansätzen in Doppelbestimmung gemessen (insgesamt 40 Bestimmungen und 80 Einzelmessungen). (Siehe Tabelle „Precision“.)

Präzisionsprofil: Eine Studie mit 10 Chargen und Proben im gesamten Messbereich, die in 10 bzw. 20 Wiederholungen bestimmt wurden, ergaben den im Abschnitt "Precision Profile" dargestellten Grafen.

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

Wiederfindung: Die getesteten Proben waren mit drei Östradiol -Lösungen 1:19 versetzt (800, 1440 und 4020 pg/ml).

(Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Recovery“.)

Spezifität: Das Antiserum wurde mit einem an der 6-Position derivatisierten Östradiol hergestellt und ist hoch spezifisch für Östradiol. (Siehe Tabelle „Specificity“.)

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

Biotin: Proben, die Biotin in einer Konzentration von 1500 ng/ml enthalten, zeigen eine Veränderung der Ergebnisse von kleiner oder gleich 10 %. Größere Biotin-Konzentrationen als diese können zu falschen Ergebnissen bei Patientenproben führen.

Hämolyse: Erythrozytenkonzentrate haben in Konzentrationen bis zu 30 µl/ml keinen Einfluss auf die Messung, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride in Konzentrationen bis zu 3000 mg/dl kann sich auf die Testergebnisse auswirken. (Siehe Tabelle „Lipemia“.)

Alternativer Probentyp: Um die Auswirkungen von verschiedenen Probenarten zu untersuchen, wurde Blut von 33 Freiwilligen in Röhrchen ohne Additiva, in Heparin- und Becton Dickinson SST Vacutainer-Rörchen gesammelt. Gleiche Volumina der jeweiligen Proben wurden mit verschiedenen Konzentrationen an estradiol versetzt, um Werte im gesamten Kalibrationsbereich zu erhalten, und die Proben anschließend mit dem IMMULITE 2000 Assay für Estradiol gemessen.

(Heparin) = 0.98 (Serum) + 11 pg/ml
r = 0.996

(SST) = 0.98 (einfachen Röhrchen) + 15 pg/ml
r = 0.994

Mittelwert:
476 pg/ml (Serum)
477 pg/ml (Heparin)
482 pg/ml (SST)

Methodenvergleich: Der Assay wurde auf der Basis von 97 Patientenproben mit dem IMMULITE Östradiol Assay verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 20 bis 1800 pg/ml. Siehe graphische Darstellung.) Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 0,90 (IML) + 18 pg/ml
r = 0,990

Mittelwert:
337 pg/ml (IMMULITE 2000)
354 pg/ml (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

Estradiol

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro* utilizando con los analizadores IMMULITE 2000. Es un ensayo diseñado para la determinación cuantitativa de estradiol (estradiol-17β, E2) en suero, como ayuda en el diagnostico diferencial de amenorreas y monitorización de la inducción de la ovulación, con o sin estimulación, en técnicas de reproducción asistida.

Números de Catálogo:
L2KE22 (200 tests), **L2KE26** (600 tests)
Código del Test: **E2** Color: **Rosa oscuro**

Resumen y Explicación del Test

El estradiol es una hormona esteroidea con una masa molecular de 272,3 daltons, la cual circula predominantemente unida a proteínas. Además del estradiol, otros estrógenos esteroideos naturales incluyen la estrona, el estriol y sus conjugados. Los estrógenos son hormonas secretadas principalmente por los folículos ováricos y también por las glándulas suprarrenales, el cuerpo lúteo, la placenta, y en los hombres por los testículos.

La secreción de las hormonas estrogénicas varía durante el ciclo menstrual durante todo el período de actividad ovárica. Las gonadotropinas de la hipófisis anterior regulan la secreción de las hormonas ováricas, del estradiol y de la progesterona; a su vez, el control hipotalámico de la producción de gonadotropina hipofisiaria está regulado por las concentraciones plasmáticas de los estrógenos y la progesterona. Este complejo sistema de retroalimentación da lugar al fenómeno cíclico de ovulación y menstruación.

Durante el embarazo, la placenta se convierte en la fuente principal de estrógenos. En la menopausia, la secreción ovárica de estrógenos decae de diferente formas.

Principio del análisis

El ensayo IMMULITE 2000 Estradiol es un inmunoanálisis quimioluminiscente competitivo de fase sólida marcado con enzimas. La fase sólida (microesfera) está recubierta con anticuerpo policlonal de conejo anti-estradiol. La fase líquida contiene fosfatasa alcalina (intestino bovino de ternero) conjugada con estradiol.

La muestra del paciente y el reactivo se incuban junto con la microesfera recubierta durante 60 minutos. Durante este tiempo, el estradiol de la muestra compite con el estradiol conjugado con la enzima del reactivo por un número limitado de sitios de unión de anticuerpo de la microesfera. La muestra del paciente no unida y el conjugado con la enzima se eliminan después mediante lavados por centrifugación. Por último, el sustrato quimioluminiscente se añade al tubo de reacción que contiene la microesfera y la señal se genera en proporción a la enzima unida.

Ciclos de incubación: 1 × 60 minutos
Tiempo hasta el primer resultado: 65 minutos

Recogida de la muestra

La lipemia puede interferir con el ensayo. Se recomienda ultracentrífugar 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 centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El Estradiol 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: 25 µl de suero

Conservación: 2 días a 2–8°C, o 2 meses a –20°C[18].

Dilucion: Se recomienda que las muestras de pacientes que den un resultado superior a 1200 pg/ml deben ser diluidos y reprocesados. Si no diluyeramos, se obtendrian resultados clinicamente relevantes pero son mas precisos los resultados que se obtienen en la parte de mayor sensibilidad de la curva.

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.



¡PRECAUCIÓN! RIESGO BIOLÓGICO POTENCIAL
Contiene material de origen

humano. Cada donación de sangre humana o componente sanguíneo ha sido probada por métodos aprobados por la FDA con el fin de detectar la presencia de anticuerpos de los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2), así como el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y el anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (VHC). Los resultados de estas pruebas fueron negativos (no repetidamente reactivos). Ninguna prueba ofrece total garantía de que en las muestras no haya estos agentes infecciosos u otros; por tanto, este material se deberá manipular conforme a las prácticas recomendables de laboratorio y las precauciones universales[20-22].

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.

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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las canerias 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 Estradiol (L2E212)
Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpos policlonales de conejo anti-estradiol. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KE22: 1 cartucho
L2KE26: 3 cartuchos

Vial de reactivo de Estradiol (L2E2A2)
Con códigos de barras. 11,5 ml de fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con estradiol en solución tampón, con conservante. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KE22: 1 vial **L2KE26:** 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 Estradiol (LE2L, LE2H)
Dos viales (bajo y alto) de cada uno con 2 ml de estradiol en suero humano procesado, con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KE22: 1 juego **L2KE26:** 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 muestra del Estradiol (L2E2Z)
Para la dilución de muestras de alta concentración dentro del equipo. Un vial de un concentrado de suero humano, con conservante (listo para su uso) con niveles indetectables de estradiol. Estable a 2–8°C durante 30 días después de

abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2E2Z: 25 ml

Se suministran etiquetas con códigos de barras para usarse con este diluyente. Antes de uso, colocar la etiqueta con el código de barras en un tubo de ensayo de 16 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2E2Z: 3 etiquetas

L2SUBM: Substrato quimioluminiscente
L2PWSM: Lavado de sonda
L2KPM: Kit de limpieza de sonda
LRXT: Tubos de reacción (desechables)
L2ZT: 250 Tubos del Diluyente de la Muestra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tapones del Tubo del Diluyente de la Muestra

E2TC: Control Estradiol (un nivel)

También necesarios
Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles

Ensayo

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

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:
2 semanas

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

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

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

Valores Esperados

Partiendo de la base de su relación con el IMMULITE Estradiol (ver Método de Comparación), se puede esperar que el ensayo tenga esencialmente los mismos rangos de referencia.

Los valores de normalidad del Estradiol IMMULITE fueron obtenidos en un estudio multinacional, con mujeres voluntarias en aprente buen estado de salud, (edad: 16–44 años) y con tomas de sangre diarias hasta completar un ciclo completo ovulatorio. Ver "Menstrual Cycle Graph" (Curva del ciclo menstrual) en "Tables and Graphs" (Tablas y gráficos).

Estradiol, pg/ml

Ciclos ovulatorios	*n**	Mediana	Central 95%
Fase folicular	54 (708)	42	ND–160
Fase folicular, Días 2 a 3	54 (108)	31	ND–84
Periovulatorio, ± 3 días	54 (378)	133	34–400
Luteal Phase	54 (604)	93	27–246

*Número de individuos (número total de resultados)

Estradiol, pmol/l

Ciclos ovulatorios	*n**	Mediana	Central 95%
Fase folicular	54 (708)	154	ND–587
Fase folicular, Días 2 a 3	54 (108)	114	ND–308
Periovulatorio, ± 3 días	54 (378)	489	124–1468
Luteal Phase	54 (604)	343	101–905

*Número de individuos (número total de resultados)

Otro estudio realizado con el kit IMMULITE Estradiol dio lugar a los siguientes resultados.

		Estradiol, pg/ml		
Grupo	*n*	Media	Mediana	Rango del 90%
Hombres	50	30,5	29,7	ND–56
Mujeres				
Postmenopaúsicas no tratadas	27	ND	ND	ND–30
Postmenopaúsicas tratadas	27	ND	ND	ND–93
Anticonceptivos orales	61	35,2	24,5	ND–102

ND: no detectable

		Estradiol, pmol/l		
Grupo	*n*	Media	Mediana	Rango del 90%
Hombres	50	112	109	ND–206
Mujeres				
Postmenopaúsicas no tratadas	27	ND	ND	ND–110
Postmenopaúsicas tratadas	27	ND	ND	ND–341
Anticonceptivos orales	61	129	90	ND–374

ND: no detectable

Niños: Los intervalos de referencia de la población pediátrica (niños y adolescentes) para el ensayo IMMULITE Estradiol se establecieron de acuerdo con el documento EP28-A3C[23] del CLSI. Las muestras se obtuvieron de manera prospectiva de sujetos pediátricos aparentemente sanos siguiendo criterios de inclusión predefinidos. Se generaron valores de referencia para subpoblaciones basadas en subgrupos clasificados por edad y etapa de Tanner en función del desarrollo fisiológico. El estudio se ha diseñado para establecer valores de referencia para ambos géneros, e incluir un número aproximadamente equivalente de varones y hembras dentro de cada subgrupo de edad o etapa de Tanner. La etapa de Tanner de cada sujeto se evaluó en función del vello púbico y el desarrollo de los genitales/las mamas. La escala, propuesta por Neinstein y Kaufman, se usó para determinar las etapas de Tanner[24].

Los intervalos de referencia y los valores de Tanner se basan en el 90% central (percentiles 5 y 95). Si las muestras no tienen un tamaño suficiente para calcular el percentil 5 o 95, se presentan los valores mínimos o máximos observados en las tablas Intervalos de referencia y Valores de referencia.

Intervalos de referencia de IMMULITE 2000/2000 XPi Estradiol para la población pediátrica

Varones

Edad (años)	*n*	Mediana	Rango
			pg/ml
2–3	10	< 20,0	< 20,0*–> 28,0†
4–9	57	< 20,0	< 20,0–41,9
10–13	119	< 20,0	< 20,0–34,7
14–21	117	26,9	< 20,0–59,2
Edad (años)	*n*	Mediana	Rango
			pmol/l
2–3	10	< 73,4	< 73,4*–> 102,8†
4–9	57	< 73,4	< 73,4–53,9
10–13	119	< 73,4	< 73,4–127,3
14–21	117	98,7	< 73,4–217,4

Hembras

Edad (años)	*n*	Mediana	Rango
		pg/ml	
2–3	17	< 20,0	< 20,0*–> 34,5†
4–9	44	20,9	< 20,0–40,7
10–11	55	27,5	< 20,0–176,0
12–21	162	60,0	< 20,0–235,2
Edad (años)	*n*	Mediana	Rango
		pmol/l	
2–3	17	< 73,4	< 73,4*–> 126,6†
4–9	44	76,7	< 73,4–149,4
10–11	55	100,9	< 73,4–645,9
12–21	162	220,2	< 73,4–863,0

* El valor presentado es el valor mínimo reportable observado; tamaño de muestra insuficiente para calcular un límite de percentil 5.

† El valor presentado es el valor máximo observado; tamaño de muestra insuficiente para calcular un límite de percentil 95.

Valores pediátricos de referencia de IMMULITE 2000/2000 XPi Estradiol por etapa de Tanner

Varones

Etapa de Tanner	*n*	Mediana	Rango
		µg/dl	
1	73	< 20,0	< 20,0–38,0
2	63	< 20,0	< 20,0–30,9
3	63	< 20,0	< 20,0–54,2
4	58	26,4	< 20,0–51,8
5	46	30,0	< 20,0–62,3
Etapa de Tanner	*n*	Mediana	Rango
		µmol/l	
1	73	< 73,4	< 73,4–139,5
2	63	< 73,4	< 73,4–113,4
3	63	< 73,4	< 73,4–199,0
4	58	96,7	< 73,4–190,2
5	46	110,1	< 73,4–228,7

Hembras

Etapa de Tanner	*n*	Mediana	Rango
		µg/dl	
1	72	< 20,0	< 20,0–54,2
2	46	34,3	< 20,0–177,2
3	64	47,5	< 20,0–203,5
4	46	56,7	< 20,0–227,5
5	50	89,7	< 20,0–363,5
Etapa de Tanner	*n*	Mediana	Rango
		µmol/l	
1	72	< 73,4	< 73,4–199,1
2	46	125,7	< 73,4–650,3
3	64	174,1	< 73,4–746,8
4	46	207,9	< 73,4–834,7
5	50	329,0	< 73,4–1334,0

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

Limitaciones

Muestras de embarazo: Se deberá tener cuidado al analizar muestras tomadas durante el embarazo, ya que los niveles de estriol pueden ser lo suficientemente altos como para interferir.

Muestras neonatales: No se ha establecido la validez de este ensayo para utilizarse en muestras neonatales. Las reacciones cruzadas de los esteroides, incluyendo el estriol, que circulan a altas concentraciones durante este período pueden dar resultados falsamente altos.

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.

El fármaco Fulvestrant (FASLODEX®)* puede producir resultados de estradiol falsamente elevados en los inmunoensayos. Con los pacientes tratados con Fulvestrant debe usarse un método alternativo que no se espere que muestre reactividad cruzada con Fulvestrant, como el método de cromatografía líquida-espectrometría de masas (LC-MS).

Con la aparición de nuevos medicamentos a base de esteroides (análogos) con estructuras químicas similares a la del estradiol, existe la posibilidad de que se produzca reactividad cruzada y resultados incoherentes con la historia clínica del paciente. Para finalidades de diagnóstico, los resultados deberán evaluarse siempre de acuerdo con la historia clínica del paciente, el examen clínico y otras observaciones. Si los resultados del estradiol son incoherentes con la evidencia clínica, se sugiere realizar análisis adicionales para confirmar el resultado.

* FASLODEX® es una marca registrada de AstraZeneca

Características Analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo ver las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en pg/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:
pg/ml × 3,671 → pmol/l

Rango informable: 20–2000 pg/ml (73–7342 pmol/l)

El ensayo es trazable a un estándar interno fabricado usando procedimientos de medida y materiales cualificados.

Sensibilidad: 15 pg/ml (55 pmol/l)

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

Perfil de Precision: Se han realizado una serie de estudios con 10 lotes de kit, usando muestras que cubren todo el rango de trabajo y procesandolas en 10 o 20 replicados. (Ver grafica de “Precision Profile”.)

Linealidad: Las muestras fueron analizadas en varias diluciones. (Ver la tabla de “Linearity” para resultados representativos.)

Recuperación: Se analizaron muestras sobrecargadas 1 en 19 con tres soluciones de estradiol (800, 1440 y 4020 pg/ml). (Ver la tabla de “Recovery” para resultados representativos.)

Especificidad: El antisuero fue generado con un derivado en la posición 6 del estradiol, y es altamente específico para el estradiol. (Ver la tabla de “Specificity”.)

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina, en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Biotina: Las muestras que contienen biotina en una concentración de 1500 ng/ml han demostrado un cambio igual o inferior al 10% en los resultados. Una concentración de biotina superior a esta puede producir resultados incorrectos para las muestras del paciente.

Hemolisis: La presencia de eritrocitos hasta concentraciones de 30 µl/ml no tiene efecto en los resultados, en lo concerniente a la precisión del ensayo.

Lipemia: La presencia de triglicéridos, en concentraciones hasta 3000 mg/dl, puede interferir con el ensayo. (Ver la tabla de “Lipemia”.)

Tipo de Muestra Alternativa: para evaluar el efecto de los diferentes tipos de muestras alternativos, se recogió sangre

de 33 voluntarios en tubos normales, tubos con Heparina, y tubos Vacutainer SST de Becton Dickinson. Volúmenes iguales de las diferentes muestras fueron sobrecargadas con diferentes concentraciones de estradiol, con la finalidad de cubrir todo el rango de calibración del ensayo, y procesadas con el procedimiento Estradiol IMMULITE 2000.

(Heparina) = 0,98 (Suero) + 11 pg/ml
r = 0,996

(SST) = 0,98 (tubos simples) + 15 pg/ml
r = 0,994

Medias:
476 pg/ml (Suero)
477 pg/ml (Heparina)
482 pg/ml (SST)

Comparación de los métodos: El ensayo fue comparado con el IMMULITE Estradiol en 97 muestras de pacientes. (Rango de Concentración: aproximadamente 20 a 1800 pg/ml. Ver el gráfico.) Por regresión linear:

(IML 2000) = 0,90 (IML) + 18 pg/ml
r = 0,990

Medias:
337 pg/ml (IMMULITE 2000)
354 pg/ml (IMMULITE)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

IMMULITE 2000 Estradiol

Domaine d'utilisation : Réservé au diagnostic *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes l'IMMULITE 2000 — pour la mesure quantitative de l'estradiol (estradiol-17β, E2) dans le sérum. Ce test constitue une aide au diagnostic différentiel des aménorrhées, à la surveillance d'ovulation provoquée, avec ou sans stimulation, lors de procréation médicale assistée (PMA).

Référence catalogue :
L2KE22 (200 tests), **L2KE26** (600 tests)
Code produit : **E2**
Code couleur : **rose foncé**

Introduction

L'estradiol est un stéroïde humain de masse moléculaire de 272,3 daltons qui circule principalement sous forme liée à des protéines. En plus de l'estradiol, les autres estrogènes stéroïdes naturels comprennent l'estrone, l'estriol et leurs dérivés. Les estrogènes sont des hormones sécrétées principalement par les follicules ovariens ainsi que par les glandes surrénales, le corps jaune, le placenta et, chez les sujets masculins, par les testicules.

Les hormones estrogéniques sont sécrétées à des taux variables au cours du cycle menstruel pendant toute la période d'activité ovarienne. Les gonadotrophines de l'hypophyse antérieure régulent la sécrétion des hormones ovariennes, l'estradiol et la progestérone ; le contrôle hypothalamique de la production de gonadotrophines pituitaires est assuré à son tour par les concentrations en estrogène et progestérone du plasma. Ce système de réactions complexes donne le phénomène cyclique de l'ovulation et de la menstruation.

Au cours de la grossesse, le placenta devient la principale source d'estrogènes. À la ménopause, la sécrétion ovarienne d'estrogènes diminue selon des taux variables.

Principe du test

IMMULITE 2000 Estradiol est un immunodosage enzymatique chimiluminescent par compétition en phase solide. La phase solide (bille) est revêtue d'anticorps polyclonaux anti-estradiol de lapin. La phase liquide est composée de phosphatase alcaline (intestins de veau) conjuguée à l'estradiol.

L'échantillon du patient et le réactif sont incubés avec la bille revêtue pendant 60 minutes. Pendant ce temps, l'estradiol de l'échantillon entre en compétition avec le conjugué estradiol-enzyme du réactif pour les sites en nombre limité de liaison des anticorps sur la bille. Les surplus d'échantillon et de réactif sont ensuite éliminés par lavages avec centrifugation. Enfin, le substrat chimiluminescent est ajouté au godet réactionnel qui contient la bille et le signal généré est proportionnel à l'enzyme liée.

Cycles d'incubation : 1 × 60 minutes
Temps de rendu du premier résultat : 65 minutes

Recueil des échantillons

Une lipémie pourra interférer avec le dosage. Il est recommander de clarifier les échantillons lipémiques 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 dûs 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 Estradiol 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 : 25 µl de sérum

Conservation : 2 jours à 2–8°C ou 2 mois à –20°C.[18]

Dilution : Pour les échantillons de patients donnant des résultats supérieurs à 1200 pg/ml, il est recommandé de les diluer et de les retester. Un résultat correspondant à la clinique peut être obtenu sans dilution, cependant une valeur plus précise est obtenue avec un dosage dans la partie sensible de la courbe.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.



AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL
Contient du matériel d'origine humaine. Chaque don de sang ou de composant sanguin humain a été testé selon des méthodes homologuées par la FDA afin de détecter la présence d'anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2), ainsi que la présence d'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) et d'anticorps anti-virus de l'hépatite C (VHC). Les résultats de ces tests se sont révélés négatifs (ou positifs mais de façon non répétable). Aucun test ne peut garantir totalement l'absence d'agents infectieux tels que ceux-ci ou d'autres. Par conséquent, ce matériel doit être manipulé conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux précautions universelles.[20-22]

AVERTISSEMENT : Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.

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 les contaminations et l'exposition directe au soleil. (Voir notice.)

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 Estradiol (L2E212)
Avec code-barres. 200 billes revêtues d'un anticorps polyclonal de lapin anti-estradiol. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KE22 : 1 cartouche
L2KE26 : 3 cartouches

Cartouche à réactif Estradiol (L2E2A2)
Avec code-barres. 11,5 ml de phosphatase alcaline (provenant des intestins de veau) conjuguée à de l'estradiol dans un tampon, avec conservateur. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KE22 : 1 cartouche
L2KE26 : 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 Estradiol (LE2L, LE2H)
2 flacons d'ajusteurs (« bas » et « haut ») de 2 ml chacun contenant de l'estradiol dans du sérum humain prétraité, avec conservateur. Stable à 2–8°C 30 jours après ouverture ou 6 mois (aliquote) à –20°C.
L2KE22 : 1 jeu **L2KE26 :** 2 jeux

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

Composants du coffret fournis séparément

Diluant Echantillon Estradiol (L2E2Z)
Pour la dilution à bord des échantillons de concentration élevée. Un flacon de solution concentrée (prête à l'emploi) Contenant du sérum humain, avec conservateur exempt de estradiol. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2E2Z : 25 ml

Les étiquttes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 × 100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2E2Z : 3 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 × 100 mm)
L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

E2TC : Contrôle Estradiol à un niveau

Egalement requis
Eau distillée ou désionisée ; tubes ; contrôles

Protocole de dosage

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

Voir le Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000 pour la préparation, le démarrage du système, la

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

Intervalle d'ajustement recommandé : 2 semaines

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

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

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

Valeurs de référence

Compte tenu de la corrélation avec le test IMMULITE Estradiol (voir Méthode de Comparaison), on peut attendre de ce test qu'il ait, pour l'essentiel, les mêmes valeurs de référence.

Les valeurs de référence ont été déterminées en utilisant le test IMMULITE Estradiol dans une étude internationale incluant des femmes apparemment en bonne santé (de 16 à 44 ans), volontaires pour un prélèvement de sang quotidien pendant un cycle ovulatoire complet. (Voir « Menstrual Cycle Graph ».)

Estradiol, pg/ml

Cycles ovulatoires	*n**	Médiane	Central 95 %
Phase folliculaire	54 (708)	42	ND–160
Phase follicualire du 2e au 3e jour	54 (108)	31	ND–84
Phase péri ovulatoire, ± 3 jours	54 (378)	133	34–400
Phase lutéale	54 (604)	93	27–246

*Nombre de sujets (nombre total de résultats)

Estradiol, pmol/l

Cycles ovulatoires	*n**	Médiane	Central 95 %
Phase folliculaire	54 (708)	154	ND–587
Phase follicualire du 2e au 3e jour	54 (108)	114	ND–308
Phase péri ovulatoire, ± 3 jours	54 (378)	489	124–1468
Phase lutéale	54 (604)	343	101–905

*Nombre de sujets (nombre total de résultats)

Une autre étude effectuée avec le dosage IMMULITE Estradiol rapporte les résultats ci-dessous.

Estradiol, pg/ml

Population	*n*	Moyenne	Médiane	90 % Domaine
Hommes adultes	50	30,5	29,7	ND–56
Femmes adultes :				
Ménopausées non traitées	27	ND	ND	ND–30
Ménopausées traitéesl	27	ND	ND	ND–93
Sous contraceptifs oraux	61	35,2	24,5	ND–102

ND : non détectable

		Estradiol, pmol/l		
Population	*n*	Moyenne	Médiane	90 % Domaine
Hommes adultes	50	112	109	ND–206
Femmes adultes :				
Ménopausées non traitées	27	ND	ND	ND–110
Ménopausées traitées	27	ND	ND	ND–341
Sous contraceptifs oraux	61	129	90	ND–374

ND : non détectable

Population pédiatrique : Les intervalles de référence pour la population pédiatrique (enfants et adolescents) ont été établis pour le test IMMULITE Estradiol conformément à la directive EP28-A3C du CLSI.[23] Des échantillons ont été obtenus de manière prospective auprès de sujets pédiatriques apparemment en bonne santé, en utilisant des critères d'inclusion prédéfinis. Des valeurs de référence ont été générées pour les sous-populations en fonction de l'âge et du stade de Tanner, d'après le développement physiologique. L'étude a été conçue pour établir des valeurs de référence entre les sexes, et pour inclure un nombre à peu près égal d'hommes et de femmes dans chaque sous-groupe d'âge ou de stade de Tanner. Le stade de Tanner du sujet a été évalué d'après le développement des poils pubiens et des organes génitaux/de la poitrine. L'échelle proposée par Neinstein et Kaufman a été utilisée pour déterminer les stades de Tanner.[24]

Les intervalles de référence et les valeurs de Tanner sont basés sur le domaine de mesure centré à 90 % (5^{e} et 95^{e} percentiles). Lorsque les tailles d'échantillon étaient insuffisantes pour calculer le 5^{e} ou le 95^{e} percentile, les valeurs observées minimales ou maximales sont présentées dans les tableaux Intervalles de référence et Valeurs de référence.

Intervalles de référence pour la population pédiatrique IMMULITE 2000/2000 XPi Estradiol

Hommes

Âge (années)	*n*	Médiane	Plage
		pg/ml	
2–3	10	< 20,0	< 20,0*–> 28,0†
4–9	57	< 20,0	< 20,0–41,9
10–13	119	< 20,0	< 20,0–34,7
14–21	117	26,9	< 20,0–59,2
Âge (années)	*n*	Médiane	Plage
		pmol/l	
2–3	10	< 73,4	< 73,4*–> 102,8†
4–9	57	< 73,4	< 73,4–53,9
10–13	119	< 73,4	< 73,4–127,3
14–21	117	98,7	< 73,4–217,4

Femmes

Âge (années)	*n*	Médiane	Plage
		pg/ml	
2–3	17	< 20,0	< 20,0*–> 34,5†
4–9	44	20,9	< 20,0–40,7
10–11	55	27,5	< 20,0–176,0
12–21	162	60,0	< 20,0–235,2
Âge (années)	*n*	Médiane	Plage
		pmol/l	
2–3	17	< 73,4	< 73,4*–> 126,6†
4–9	44	76,7	< 73,4–149,4
10–11	55	100,9	< 73,4–645,9
12–21	162	220,2	< 73,4–863,0

* La valeur présentée est la valeur mesurable minimale observée ; taille d'échantillon insuffisante pour calculer une limite du 5^{e} percentile.

† La valeur présentée est la valeur maximale observée ; taille d'échantillon insuffisante pour calculer une limite du 95^{e} percentile.

Valeurs de référence par stade de Tanner pour la population pédiatrique IMMULITE 2000/2000 XPi Estradiol

Hommes

Stade de Tanner	*n*	Médiane	Plage
			µg/dl
1	73	< 20,0	< 20,0–38,0
2	63	< 20,0	< 20,0–30,9
3	63	< 20,0	< 20,0–54,2
4	58	26,4	< 20,0–51,8
5	46	30,0	< 20,0–62,3

Stade de Tanner	*n*	Médiane	Plage
			µmol/l
1	73	< 73,4	< 73,4–139,5
2	63	< 73,4	< 73,4–113,4
3	63	< 73,4	< 73,4–199,0
4	58	96,7	< 73,4–190,2
5	46	110,1	< 73,4–228,7

Femmes

Stade de Tanner	*n*	Médiane	Plage
			µg/dl
1	72	< 20,0	< 20,0–54,2
2	46	34,3	< 20,0–177,2
3	64	47,5	< 20,0–203,5
4	46	56,7	< 20,0–227,5
5	50	89,7	< 20,0–363,5

Stade de Tanner	*n*	Médiane	Plage
			µmol/l
1	72	< 73,4	< 73,4–199,1
2	46	125,7	< 73,4–650,3
3	64	174,1	< 73,4–746,8
4	46	207,9	< 73,4–834,7
5	50	329,0	< 73,4–1 334,0

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

Limites

Échantillons de femmes enceintes : procéder avec prudence en testant les échantillons de femmes enceintes étant donné que les taux d'estriol peuvent être suffisamment importants pour interférer.

Échantillons de nouveau-nés : le test n'a pas été validé pour une utilisation sur des échantillons de nouveau-nés. Des stéroïdes, l'estriol compris, circulant à de fortes concentrations pendant cette période peuvent donner lieu à des résultats faussement élevés.

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 rares sérums 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.

Le fulvestrant (FASLODEX®)* peut provoquer des résultats d'estradiol faussement élevés dans les immunodosages. Pour les patients traités par le fulvestrant, une autre méthode qui n'est pas reconnue comme présentant une réactivité croisée avec le fulvestrant, telle que la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS, Liquid Chromatography-Mass Spectrometry), devrait être utilisée.

Avec l'apparition de nouveaux médicaments (analogues) à base de stéroïdes dont les structures chimiques sont similaires à celles de l'estradiol, il existe une possibilité de réactivité croisée

et de résultats non cohérents avec l'historique clinique du patient. À des fins de diagnostic, les résultats devraient toujours être interprétés en rapport avec les antécédents médicaux du patient, les signes cliniques et autres constatations. Si les résultats de l'estradiol ne sont pas cohérents avec les preuves cliniques, des tests supplémentaires sont suggérés pour confirmer le résultat.

* FASLODEX® est une marque déposée d'AstraZeneca

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en pg/ml. (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.)

Facteur de conversion :
pg/ml × 3,671 → pmol/l

Domaine de mesure : 20–2000 pg/ml (73–7342 pmol/l)

Le dosage peut être retracé à un standard interne, manufacturé à l'aide de matériaux et procédures de mensuration qualifiées.

Sensibilité analytique : 15 pg/ml (55 pmol/l)

Précision : Les échantillons ont été dosés en double essai pendant 20 jours, avec 2 séries par jour, soit au total 40 séries et 80 doublets. (Voir le tableau « Precision ».)

Profil de précision : Dans une série d'études incluant 10 lots différents de coffrets, des échantillons couvrant le domaine de mesure ont été dosés de 10 à 20 fois par série. (Voir le graphique « Precision Profile ».)

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

Test de récupération : Les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions d'estradiol (800, 1440 et 4020 pg/ml). (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : L'antisérum a été généré avec un dérivé d'estradiol en position 6, il est hautement spécifique de l'estradiol. (Voir le tableau « Specificity ».)

Bilirubine : La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

Biotine : Les échantillons contenant de la biotine à une concentration de 1500 ng/ml présentent un changement de résultats inférieur ou égal à 10 %. Des concentrations de biotine supérieures à cette valeur peuvent entraîner des résultats d'échantillons patients erronés.

Hémolyse : La présence d'agrégat d'hématies jusqu'à une concentration de 30 µl/ml, n'a aucun effet sur les résultats quant à la précision du dosage.

Lipémie : La présence de triglycérides si la concentration ne dépasse pas 3000 mg/dl pourra interférer avec le dosage. (Voir le tableau « Lipemia ».)

Autres types d'échantillons : Pour estimer l'effet de l'utilisation de différents type d'échantillons, 33 volontaires ont été prélevés sur tubes secs, héparinés, et sur tubes Vacutainer SST Becton Dickinson. Des volumes égaux de ces différents échantillons ont été mélangés avec plusieurs concentrations d' estradiolo pour obtenir des valeurs à l'intérieur du domaine de mesure du test puis dosés avec le protocole l'IMMULITE 2000 Estradiolo.

(Héparine) = 0,98 (Sérum) + 11 pg/ml
r = 0,996

(SST) = 0,98 (tubes ordinaires) + 15 pg/ml
r = 0,994

Moyennes :
476 pg/ml (Sérum)
477 pg/ml (Héparine)
482 pg/ml (SST)

Comparaison de méthodes : le test a été comparé au test IMMULITE Estradiol sur 97 échantillons (dont les concentrations

allaient d'environ 20 à 1800 pg/ml. Voir graphique.) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 0,90 (IML) + 18 pg/ml
r = 0,990

Moyennes :
337 pg/ml (IMMULITE 2000)
354 pg/ml (IMMULITE)

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

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

Italiano

IMMULITE 2000 Estradiolo

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa dell'estradiolo (estradiol-17β, E2) nel siero, quale ausilio nella diagnosi differenziale dell'amenorrea e del monitoraggio dell'induzione dell'ovulazione con e senza stimolazione nelle tecniche di riproduzione assistita (ART).

Codice: **L2KE22** (200 test),
L2KE26 (600 test)
Codice del Test: **E2** Colore: **Rosa Scuro**

Riassunto e Spiegazione del Test

L'Estradiolo è un ormone steroideo con un peso molecolare di 272,3 dalton che circola prevalentemente legato alle proteine. Oltre all'Estradiolo altri estrogeni steroidei naturali comprendono l'Estrone, l'Estriolo ed i loro coniugati. Gli estrogeni sono ormoni secreti principalmente dai follicoli ovarici, dalle ghiandole surrenali, dal corpo luteo, dalla placenta e, nei maschi, dai testicoli.

Gli estrogeni vengono secreti con ritmi variabili nel corso del ciclo mestruale per tutto il periodo di attività delle ovaie. Le gonadotropine dell'ipofisi anteriore regolano la secrezione degli ormoni ovarici, quali l'estradiolo ed il progesterone, il controllo ipotalamico della produzione di gonadotropina ipofisaria viene regolato dai livelli plasmatici di estrogeni e di progesterone. Questo complesso sistema di feedback provoca il fenomeno ciclico dell'ovulazione e della mestruazione.

Nel corso della gravidanza la placenta diventa la sorgente principale di estrogeni. Durante la menopausa la secrezione ovarica diminuisce con ritmi variabili.

Principio del procedimento

IMMULITE 2000 Estradiolo è un immunodosaggio chemiluminescente competitivo, in fase solida e con enzima marcato. La fase solida (biglia) è coattata con anticorpo policlonale di coniglio anti-estradiolo. La fase liquida consiste di fosfatasi alcalina (da intestino di vitello) coniugata all'estradiolo.

Il campione del paziente e il reagente vengono messi in incubazione insieme alla sferetta coattata per 60 minuti. Durante questo tempo, l'estradiolo presente nel campione compete con l'estriadolo coniugato con l'enzima del reagente per un numero limitato di siti di legame dell'anticorpo coattato alla sferetta. Il campione del paziente e il coniugato enzimatico che non si sono legati vengono quindi rimossi attraverso lavaggi centrifughi. Infine, il substrato chemiluminescente è aggiunto alla cuvetta di reazione contenente la sferetta e il segnale è generato in proporzione all'enzima legato.

Cicli d'incubazione: 1 × 60 minuti
Tempo al Primo Risultato: 65 minuti

Raccolta del Campione

La lipemia potrebbe interferire con la prova. Èraccomandata un'ultricentrifuga per eliminare i campioni lipemici.

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

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. L'IMMULITE 2000 Estradiolo non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume richiesto: 25 µL di siero

Conservazione: 2 giorni a 2–8°C o 2 mesi a –20°C.[18]

Diluizione: Si consiglia di ridosare dopo diluizione i campioni con valori superiori a 1200 pg/mL. Infatti benché il risultato ottenuto senza diluizione sia clinicamente attendibile, la diluizione del campione consente di ottenere una maggior accuratezza del dato riportando il valore a livello della porzione più sensibile della curva.

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

ATTENZIONE! POTENZIALE PERICOLO BIOLOGICO
Contiene materiale di origine umana. Ciascuna donazione di sangue o componenti ematici umani è stata testata con metodi approvati dalla FDA per rilevare la presenza di anticorpi al virus dell'immunodeficienza umana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2), nonché per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e gli anticorpi al virus dell'epatite C (HCV). I risultati del test sono stati negativi (non ripetutamente reattivi). Nessun test offre assicurazione completa che questi o altri agenti infettivi siano assenti; questo materiale va trattato utilizzando le corrette prassi di laboratorio e le precauzioni universali.[20-22]

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale portatore e trasmettitore di agenti patogeni.

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

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

Èstata 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 unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

Contenitore di Sferette Estradiolo (L2E212)
Con codice a barre. 200 sferette coattate con un anticorpo policlonale di coniglio anti-Estradiolo. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KE22: 1 confezione
L2KE26: 3 confezioni

Porta Reagente Estradiolo (L2E2A2)
Con codice a barre. 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con estradiolo in un tampone, con conservanti. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KE22: 1 Porta Reagente
L2KE26: 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.

Calibratori Estradiolo (LE2L, LE2H)
Due flaconi (Basso ed Alto), ciascuno con 2 mL di estradiolo in siero umano trattato, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KE22: 1 set **L2KE26:** 2 set

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

I componenti dei kit sono forniti separatamente

Diluente dell'Estradiolo (L2E2Z)
Per la diluizione interna di campioni ad elevata concentrazione. Una provetta di siero umano processato, con conservanti, concentrato (pronto all'uso), contenente livelli da non rilevabili a bassi di estradiolo. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, e per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2E2Z: 25 mL

Vengono fornite le etichette da utilizzarsi con il Diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm cosicchè i codici a barre possano essere letti dal lettore interno.
L2E2Z: 3 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 × 100 mm) per Diluente del Campione
L2ZC: 250 Tappini per Provette del Diluente del Campione

E2TC: Controllo dell'Estradiolo (livello unico)

Materiali richiesti
Acqua distillata o deionizzata; provette; controlli

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi 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: Per la frequenza del controllo di qualità seguire le normative in vigore o i requisiti di accreditamento.

Usare i controlli o campioni di siero con almento due livelli (basso ed alto) del Estradiolo.

Siemens Healthcare Diagnostics consiglia l'utilizzo di materiali di controllo della qualità disponibili in commercio con almeno 2 livelli (bassi e alti). Un livello soddisfacente di prestazioni si raggiunge quando i valori dell'analita ottenuti

rientrano nei range di accettabilità del Controllo per il sistema o nei range stabiliti all'interno del laboratorio attraverso un programma appropriato di valutazione del controllo di qualità.

I valori attesi

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

I range di riferimento sono stati generati utilizzando il kit Estradiolo IMMULITE all'interno di uno studio multi-nazionale che ha coinvolto donne in apparente buona salute (età: 16–44 anni), che volontariamente hanno collaborato sottoponendosi ad un prelievo giornalierodi sangue per l'intera durata di un ciclo ovulatorio. (Vedi grafico del "Ciclo Mestruale".)

		Estradiolo, pg/mL	
Cicli Ovulatori	*n**	Mediana	Range Centrale 95%
Fase Follicolare	54 (708)	42	ND–160
Fase Follicolare giorni da 2 a 3	54 (108)	31	ND–84
Fase Periovulat. ± 3 giorni	54 (378)	133	34–400
Fase Luteinica	54 (604)	93	27–246

*Numero di soggetti (numero totale di risultati)

		Estradiolo, pmol/L	
Cicli Ovulatori	*n**	Mediana	Range Centrale 95%
Fase Follicolare	54 (708)	154	ND–587
Fase Follicolare, giorni da 2 a 3	54 (108)	114	ND–308
Fase Periovulat, ± 3 giorni	54 (378)	489	124–1468
Fase Luteinica	54 (604)	343	101–905

*Numero di soggetti (numero totale di risultati)

Un altro studio effettuato con il kit Estradiolo IMMULITE ha prodotto i seguenti risultati:

		Estradiolo, pg/mL		
Gruppo	*n*	Media	Mediana	Range 90%
Uomini	50	30,5	29,7	ND–56
Donne				
Soggetti non trattati Postmenopausa	27	ND	ND	ND–30
Soggetti trattati Postmenopausa	27	ND	ND	ND–93
Contraccettivi Orali	61	35,2	24,5	ND–102

ND: Non determinabile

		Estradiolo, pmol/L		
Gruppo	*n*	Media	Mediana	Range 90%
Uomini	50	112	109	ND–206
Donne				
Soggetti non trattati Postmenopausa	27	ND	ND	ND–110
Soggetti trattati Postmenopausa	27	ND	ND	ND–341
Contraccettivi Orali	61	129	90	ND–374

ND: Non determinabile

Popolazione pediatrica: Sono stati stabiliti gli intervalli di riferimento per la popolazione pediatrica (bambini e adolescenti) per il dosaggio IMMULITE Estradiolo in conformità alle linee guida CLSI EP28-A3C.[23] I campioni sono stati raccolti in modo prospettico da soggetti pediatrici apparentemente sani, utilizzando criteri di inclusione predefiniti. I valori di riferimento per le sottopopolazioni sono stati generati sulla base di sottogruppi suddivisi per età e stadio di Tanner sulla base dello sviluppo fisiologico. Lo studio è stato sviluppato per determinare i valori di riferimento tra la popolazione maschile e femminile, al fine di includere un numero approssimativamente simile di maschi e femmine all'interno di ciascun sottogruppo per età o stadio di Tanner. Lo stadio di Tanner del soggetto è stato valutato sulla base della peluria pubica e dello sviluppo

dei genitali/del seno. È stata utilizzata la scala proposta da Neinstein e Kaufman per determinare gli stadi di Tanner.[24]

Gli intervalli di riferimento e i valori relativi allo stadio di Tanner si basano sul 90% centrale (5° e 95° percentile). Laddove il numero di campioni non è stato sufficiente per poter effettuare il calcolo del 5° o 95° percentile, vengono indicati i valori massimo e minimo osservati nelle tabelle degli Intervalli di riferimento e dei Valori di riferimento.

Intervalli di riferimento pediatrici di IMMULITE 2000/2000 XPi Estradiolo

Maschi

		Mediana	Range
Età (anni)	*n*		pg/mL
2–3	10	< 20,0	< 20,0*–> 28,0†
4–9	57	< 20,0	< 20,0–41,9
10–13	119	< 20,0	< 20,0–34,7
14–21	117	26,9	< 20,0–59,2
		Mediana	Range
Età (anni)	*n*		pmol/L
2–3	10	< 73,4	< 73,4*–> 102,8†
4–9	57	< 73,4	< 73,4–53,9
10–13	119	< 73,4	< 73,4–127,3
14–21	117	98,7	< 73,4–217,4

Femmine

		Mediana	Range
Età (anni)	*n*		pg/mL
2–3	17	< 20,0	< 20,0*–> 34,5†
4–9	44	20,9	< 20,0–40,7
10–11	55	27,5	< 20,0–176,0
12–21	162	60,0	< 20,0–235,2
		Mediana	Range
Età (anni)	*n*		pmol/L
2–3	17	< 73,4	< 73,4*–> 126,6†
4–9	44	76,7	< 73,4–149,4
10–11	55	100,9	< 73,4–645,9
12–21	162	220,2	< 73,4–863,0

*È indicato il valore minimo refertabile osservato; numero di campioni insufficiente per il calcolo del limite del 5° percentile.

†È indicato il valore massimo refertabile osservato; numero di campioni insufficiente per il calcolo del limite del 95° percentile.

Valori di riferimento pediatrici di IMMULITE 2000/2000 XPi Estradiolo per stadio di Tanner

Maschi

Stadio di Tanner	*n*	Mediana	Range
			µg/dL
1	73	< 20,0	< 20,0–38,0
2	63	< 20,0	< 20,0–30,9
3	63	< 20,0	< 20,0–54,2
4	58	26,4	< 20,0–51,8
5	46	30,0	< 20,0–62,3
Stadio di Tanner	*n*	Mediana	Range
			µmol/L
1	73	< 73,4	< 73,4–139,5
2	63	< 73,4	< 73,4–113,4
3	63	< 73,4	< 73,4–199,0
4	58	96,7	< 73,4–190,2
5	46	110,1	< 73,4–228,7

Femmine

Stadio di Tanner	*n*	Mediana	Range
			µg/dL
1	72	< 20,0	< 20,0–54,2
2	46	34,3	< 20,0–177,2
3	64	47,5	< 20,0–203,5
4	46	56,7	< 20,0–227,5
5	50	89,7	< 20,0–363,5
Stadio di Tanner	*n*	Mediana	Range
			µmol/L
1	72	< 73,4	< 73,4–199,1
2	46	125,7	< 73,4–650,3
3	64	174,1	< 73,4–746,8
4	46	207,9	< 73,4–834,7
5	50	329,0	< 73,4–1334,0

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

Limiti

Campioni provenienti da donne in gravidanza: Eseguire con cautela il dosaggio di campioni provenienti da donne in gravidanza, poiché i livelli di Estriolo possono essere elevati e quindi interferire.

Campioni neonatali: Il dosaggio non è stato validato per l'utilizzo con campioni neonatali. Gli steroidi che crossreagiscono, quali l'Estriolo, circolanti a livelli alti nel corso di detto periodo, possono causare risultati falsamente elevati.

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.

Il farmaco Fulvestrant (FASLODEX®)* potrebbe determinare risultati falsamente elevati di estradiolo negli immunodosaggi. Per i pazienti trattati con Fulvestrant, deve essere utilizzato un metodo alternativo che non si prevede provochi reattività crociata con Fulvestrant, ad esempio la Spettrometria di massa-cromatografia liquida (LC-MS).

Con l'avvento di nuovi farmaci a base di steroidi (analoghi) con strutture chimiche simili all'estradiolo, vi è la possibilità di reattività crociata e risultati in contrasto con la storia clinica dei pazienti. Ai fini diagnostici, i risultati vanno sempre valutati unitamente all'anamnesi clinica del paziente, all'esame clinico e ad altri riscontri. Se i risultati dell'estradiolo sono in contrasto con le prove cliniche, si suggerisce di eseguire ulteriori esami per confermare il risultato.

* FASLODEX® è un marchio registrato di AstraZeneca

Dati sulle prestazioni

Vedere le tabelle e le grafiche per i dati *rappresentativi* delle prestazioni della prova. I risultati sono espressi in pg/mL. (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.)

Fattore di Conversione:
pg/mL × 3,671 → pmol/L

Range di Riferimento:
20–2000 pg/mL (73–7342 pmol/L)

Il dosaggio è standardizzato verso uno standard interno preparato usato con materiali e secondo procedure di qualità.

Sensibilità analitica: 15 pg/mL (55 pmol/L)

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

Profilo di Precisione: nello studio effettuato su 10 diversi lotti, i campioni con valori nell'ambito di tutto l'intervallo di lavoro del kit, sono stati dosati in 10 o 20 replicati per seduta. (Vedi il grafico "Precision Profile".)

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

Recupero: Sono stati dosati campioni 1:19 cui sono state aggiunte tre soluzioni di Estradiolo (800, 1440 e 4020 pg/mL). (Vedi la tabella "Recovery" per dati rappresentativi.)

Specificità: L'antisiero è stato generato con un derivato dell'estradiolo modificato in posizione -6, ed è altamente specifico per l'estradiolo. (Vedi la Tabella "Specificity".)

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

Biotina: I campioni che contengono biotina a una concentrazione di 1500 ng/mL dimostrano una variazione nei risultati inferiore o pari al 10%. Le concentrazioni di biotina superiori a questo valore potrebbero portare a risultati non corretti dei campioni dei pazienti.

Emolisi: La presenza di globuli rossi impaccati in concentrazioni fino a 30 µL/mL non ha effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Lipemia: La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 3000 mg/dL potrebbe interferire con la prova. (Vedi tabella "Lipemia".)

Tipo di Campione Alternativo: Per determinare l'effetto di campioni alternativi, è stato prelevato del sangue da 33 volontari in provette semplici, eparinizzate, e Becton Dickinson Vacutainer SST. Ad ugual volumi di campioni misti sono state aggiunte varie concentrazioni di estradiolo per ottenere valori lungo l'intero range di calibrazione del dosaggio e quindi dosati con il kit IMMULITE 2000 Estradiolo.

(Eparina) = 0,98 (Siero) + 11 pg/mL
r = 0,996

(SST) = 0,98 (tubi semplici) + 15 pg/mL
r = 0,994

Valore medio:
476 pg/mL (Siero)
477 pg/mL (Eparina)
482 pg/mL (SST)

Paragone dei metodi: La prova è stata paragonata all'Estradiolo IMMULITE su 97 campioni. (Gamma di concentrazione: da 20 a 1800 pg/mL circa. Vedere la grafica.) Mediante regressione lineare:

(IML 2000) = 0,90 (IML) + 18 pg/mL
r = 0,990

Valore medio:
337 pg/mL(IMMULITE 2000)
354 pg/mL (IMMULITE)

Assistenza Tecnica

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

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

Estradiol

Utilização: Para uso em diagnóstico *in vitro* com os Analisadores dos Sistemas IMMULITE 2000 — para a detecção quantitativa do estradiol (estradiol-17β, E2) no soro, no auxilio do diagnóstico diferencial da amenorreia, e monitorização da indução de ovulação com ou sem estimulação na tecnologia de reprodução assistida (TRA).

Números de catálogo: **L2KE22** (200 testes), **L2KE26** (600 testes)
Código do teste: **E2** Cor: **Rosa escuro**

Sumário e explicação do teste

O estradiol é uma hormona esteróide com P.M. de 272,3 daltons, que circula no sangue e está predominantemente ligada a proteínas séricas. Além do estradiol existem outras hormonas esteróides naturais incluindo a estrona, o estriol e seus conjugados.Os estrogénios são hormonas segregadas principalmente pelos folículos do ovário e também pelas glândulas supra-renais, *corpus luteum*, placenta e, no homem, pelos testículos.

As hormonas esteróides são segregadas em níveis variáveis durante o ciclo menstrual, por todo o período de actividade ovariana. As gonadotrofinas da glândula pituitária anterior regulam a secreção das hormonas ovarianas; estradiol e progesterona; o controlo hipotalâmico da produção da gonadotrofina pituitária é, por sua vez, regulado pelas concentrações de estrogénios e progesterona no plasma. Este complexo sistema de “feedback" resulta no fenómeno cíclico da ovulação e menstruação.

Durante a gravidez, a placenta torna-se a fonte principal de estrogénios. Na

menopausa, a secreção ovariana de estrogénios decresce atingindo valores basais variáveis.

Princípio do procedimento

O IMMULITE 2000 Estradiol é um imunoensaio enzimático competitivo e quimioluminescente de fase sólida. A fase sólida (esfera) está revestida com anticorpo de coelho policlonal anti-estradiol. A fase líquida consiste em fosfatase alcalina (intestino de vitelo) conjugada com estradiol.

A amostra de doente e o reagente ficam a incubar em conjunto com a esfera revestida durante 60 minutos. Durante esse período, a estradiol da amostra compete com a estradiol conjugada com enzimas do reagente por um número limitado de locais de ligação do anticorpo na esfera. A amostra de doente e o conjugado enzimático não ligados são então eliminados por sucessivas lavagens. Por último, o substrato quimioluminescente é adicionado ao tubo de reacção que contém a esfera, sendo produzido um sinal proporcional à quantidade de enzima ligada.

Ciclos de incubação: 1 × 60 minutos
Tempo para o Primeiro Resultado: 65 minutos

Colheita

A lipemia pode interferir com a análise. Uma ultracentrífugação é recomendada para clarificar 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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 Estradiol não foram ainda testados com todas as possiveis 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: 25 µL de soro

Estabilidade: 2 dias a 2–8°C, ou 2 meses a –20°C[18].

Diluição: Recomenda-se que as amostras dos pacientes com resultados acima de 1200 pg/mL sejam diluidas e reensaiadas. Um resultado clinicamente relevante é obtido sem diluição, mas um valor mais exacto é obtido quando testado na parte sensível da curva.

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.



PRECAUÇÃO! POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO
Contém material de origem humana. Cada dádiva de sangue ou componente de sangue humano foi testada pelos métodos aprovados pela FDA quanto à presença de anticorpos dos vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e tipo 2 (VIH-2), bem como do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e dos anticorpos do vírus da hepatite C (VHC). Os resultados dos testes foram negativos (não repetidamente reativos). Nenhum teste oferece total garantia de que estes ou outros agentes infeciosos estejam ausentes; este material deve ser manuseado de acordo com as boas práticas laboratoriais e precauções universais[20-22].

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as normas aplicadas.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas obtidas de soro humano foram testadas, dando 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.

A azida sódica foi adicionada como conservante a concentrações inferiores a 0,1 g/dL. Quando eliminar o produto, utilize água em abundância para evitar a acumulação de azidas metálicas potencialmente explosivas nas canalizações de chumbo e cobre.

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

Água: Utilize água destilada ou desionizada.

Materiais fornecidos

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. As etiquetas no interior das caixas são necessárias para o ensaio.

Embalagem de pérolas de Estradiol (L2E212)
Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com anticorpo policlonal de coelho anti-estradiol. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KE22: 1 embalagem
L2KE26: 3 embalagens

Embalagem de reagentes de Estradiol (L2E2A2)
Com código de barras. Contém 11,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugado com estradiol em tampão, com conservante. Estável até à data de validade a 2–8°C.
L2KE22: 1 embalagem
L2KE26: 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 Estradiol (LE2L, LE2H)
Contém dois frascos (nível alto e baixo) cada um contendo 2 mL de estradiol livre em matriz de soro humano, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KE22: 1 conjunto **L2KE26:** 2 conjuntos

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas da alíquota apropriadas (fornecidas com o "kit") em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Diluente de amostra para Estradiol (L2E2Z)
Para diluição de amostras no aparelho. Um frasco de concentrado pronto a usar, constituido por soro humano (com conservante), processado, com níveis baixos ou indetectáveis de estradiol. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2E2Z: 25 mL

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2E2Z: 3 etiquetas

L2SUBM: Substrato quiomioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Kit de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)
L2ZT: 250 Tubos de diluente da amostra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

E2TC: Controlo de Estradiol (um único nível)

Também necessário
Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos

Procedimento do doseamento

Ter em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000.

Consultar o Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000 relativamente aos procedimentos de preparação, diluição, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável:
2 semanas

Amostras de controlo de qualidade:
Observe os regulamentos governamentais ou os requisitos de acreditação quanto à frequência do controlo de qualidade.

Utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de estradiol.

A Siemens Healthcare Diagnostics recomenda a utilização de materiais de controlo de qualidade comercialmente disponíveis com pelo menos 2 níveis (baixo e alto). É alcançado um nível de desempenho satisfatório quando os valores dos analitos obtidos estiverem dentro dos Limites de Controlo Aceitáveis para o sistema ou dentro dos limites estabelecidos e determinados pelo regime de controlo de qualidade laboratorial interno adequado.

Valores de Referência

Baseado na sua relação com o Estradiol IMMULITE (vêr comparação de métodos), pode esperar-se que o doseamento tenha valores de referência idênticos.

Os seguintes valores de referência foram obtidos, utilizando o Estradiol IMMULITE, através de um estudo multi-nacional, com mulheres saudáveis (16–44 anos de idade), as quais se voluntarizaram a uma análise sanguínea diária durante um ciclo ovulatório completo. (Ver gráfico “Ciclo menstrual”.)

		Estradiol, pg/mL	
Ciclos Ovulatórios	*n**	Mediana	Central 95%
Fase folicular	54 (708)	42	ND–160
Fase folicular, Dias 2 a 3	54 (108)	31	ND–84
Periovulatório ± 3 dias	54 (378)	133	34–400
Fase luteínica	54 (604)	93	27–246

*Número de indivíduos (número total de resultados)

		Estradiol, pmol/L	
Ciclos ovulatórios	*n**	Mediana	Central 95%
Fase folicular	54 (708)	154	ND–587
Fase folicular Dias 2 a 3	54 (108)	114	ND–308
Periovulatório ± 3 dias	54 (378)	489	124–1468
Fase luteínica	54 (604)	343	101–905

* Número de indivíduos (número total de resultados)

Um outro estudo realizado com o Estradiol IMMULITE forneceu os seguintes resultados:

		Estradiol, pg/mL		
Grupo	*n*	Média	Mediana	Percentil 90%
Homens adultos	50	30,5	29,7	ND–56
Mulheres adultas				
Pós-menopausa não tratada	27	ND	ND	ND–30
Pós-menopausa tratada	27	ND	ND	ND–93
Anticoncepcionais orais	61	35,2	24,5	ND–102

ND: Não detectável

		Estradiol, pmol/L		
Grupo	*n*	Média	Mediana	Percentil 90%
Homens adultos	50	112	109	ND–206
Mulheres adultas				
Pós-menopausa não tratada	27	ND	ND	ND–110
Pós-menopausa tratada	27	ND	ND	ND–341
Anticoncepcionais orais	61	129	90	ND1–374

ND: Não detectável

Pediátrico: Os intervalos de referência para a população pediátrica (crianças e adolescentes) foram estabelecidos para o ensaio IMMULITE Estradiol em conformidade com a norma EP28-A3C do CLSI[23]. As amostras foram colhidas prospectivamente de indivíduos pediátricos aparentemente saudáveis, utilizando os critérios de inclusão predefinidos. Os valores de referência foram gerados para subpopulações com base na idade e os subgrupos dos estádios de Tanner basearam-se no desenvolvimento fisiológico. O estudo foi concebido para estabelecer valores de referência entre géneros e para incluir aproximadamente números idênticos de homens e mulheres dentro de cada subgrupo etário ou de estádios de Tanner. O estádio de Tanner do indivíduo foi avaliado com base no desenvolvimento dos pelos púbicos e dos órgãos genitais/seios. Foi utilizada a escala proposta por Neinstein and Kaufman para a determinação dos estádios de Tanner[24].

Os intervalos de referência e os valores de Tanner baseiam-se nos 90% centrais (percentis 5 e 95). Nos casos em que o número de amostras foi insuficiente para calcular o percentil 5 ou 95, são apresentados os valores observados mínimos ou máximos nas tabelas de Intervalos de referência e de Valores de referência.

Intervalos de referência pediátricos para IMMULITE 2000/2000 XPi Estradiol

Homem

Idade (anos)	*n*	Mediana	Intervalo
			pg/ml
2–3	10	<20,0	<20,0*–>28,0†
4–9	57	<20,0	<20,0–41,9
10–13	119	<20,0	<20,0–34,7
14–21	117	26,9	<20,0–59,2
Idade (anos)	*n*	Mediana	Intervalo
			pmol/l
2–3	10	<73,4	<73,4*–>102,8†
4–9	57	<73,4	<73,4–53,9
10–13	119	<73,4	<73,4–127,3
14–21	117	98,7	<73,4–217,4

Mulher

Idade (anos)	*n*	Mediana	Intervalo
			pg/ml
2–3	17	<20,0	<20,0*–>34,5†
4–9	44	20,9	<20,0–40,7
10–11	55	27,5	<20,0–176,0
12–21	162	60,0	<20,0–235,2
Idade (anos)	*n*	Mediana	Intervalo
			pmol/l
2–3	17	<73,4	<73,4*–>126,6†
4–9	44	76,7	<73,4–149,4
10–11	55	100,9	<73,4–645,9
12–21	162	220,2	<73,4–863,0

*O valor apresentado é o valor mínimo observado doseável; tamanho da amostra insuficiente para calcular o limite do percentil 5.

† O valor apresentado é o valor máximo observado; tamanho da amostra insuficiente para calcular o limite do percentil 95.

Valores de referência pediátricos para IMMULITE 2000/2000 XPi Estradiol por Estádio de Tanner

Homem

Estádio de Tanner	*n*	Mediana	Intervalo
			µg/dl
1	73	<20,0	<20,0–38,0
2	63	<20,0	<20,0–30,9
3	63	<20,0	<20,0–54,2
4	58	26,4	<20,0–51,8
5	46	30,0	<20,0–62,3
Estádio de Tanner	*n*	Mediana	Intervalo
			µmol/l
1	73	<73,4	<73,4–139,5
2	63	<73,4	<73,4–113,4
3	63	<73,4	<73,4–199,0
4	58	96,7	<73,4–190,2
5	46	110,1	<73,4–228,7

Mulher

Estádio de Tanner	*n*	Mediana	Intervalo
			µg/dl
1	72	<20,0	<20,0–54,2
2	46	34,3	<20,0–177,2
3	64	47,5	<20,0–203,5
4	46	56,7	<20,0–227,5
5	50	89,7	<20,0–363,5
Estádio de Tanner	*n*	Mediana	Intervalo
			µmol/l
1	72	<73,4	<73,4–199,1
2	46	125,7	<73,4–650,3
3	64	174,1	<73,4–746,8
4	46	207,9	<73,4–834,7
5	50	329,0	<73,4–1334,0

Considere estes limites apenas como *directrizes*. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores de referência.

Limitações

Amostras de grávidas: Os níveis elevados de estriol normalmente presentes nestas amostras podem interferir com os resultados de doseamento do estradiol, produzindo valores elevados.

Amostras neonatais: O doseamento não foi testado com amostras neonatais. Esteróides com reactividade cruzada, incluindo o estriol, em altos níveis de circulação durante este período podem causar resultados falsamente elevados.

Os anticorpos heterófilos no soro humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes no ensaio, causando interferência com os imunoensaios *in vitro*. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34: 27-33.] Amostras de doentes expostas em rotina a produtos ou soros de animais podem demonstrar este tipo de interferência, potencial causador de resultados anómalos. Estes reagentes foram formulados para minimizar o risco de interferência, contudo podem ocorrer potenciais interacções entre soros (raros) e componentes do teste. Para fins de diagnóstico, os resultados obtidos neste ensaio devem ser sempre analisados em combinação com o exame clínico, história de medicação do doente e outros achados que possam correlacionar.

O fármaco Fulvestrant (FASLODEX®)* pode provocar resultados de estradiol falsamente elevados nos imunoensaios. Para os doentes tratados com Fulvestrant, deve ser utilizado um método alternativo que não se preveja que demonstre reatividade cruzada ao Fulvestrant, como por exemplo Cromatografia líquida-Espectrometria de massa (LC-MS).

Com o surgimento de novos medicamentos baseados em esteroides (análogos) com estruturas químicas semelhantes ao estradiol, existe a possibilidade de ocorrência de reatividade cruzada e resultados inconsistentes com o historial clínico dos doentes. Para fins de diagnóstico, os resultados devem sempre ser avaliados em conjunto com o historial médico do doente, exame clínico e outros

dados de interesse. Se os resultados de estradiol forem inconsistentes com a evidência clínica, sugere-se a realização de testes adicionais para confirmar o resultado.

* FASLODEX® é uma marca comercial registada da AstraZeneca

Características do ensaio

Ver tabelas e gráficos para dados representativos da performance do doseamento. Os resultados são apresentados em pg/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:
pg/ml × 3,671 → pmol/L

Zona de Trabalho: 20–2000 pg/mL (73–7342 pmol/L)

O ensaio é monotorizado com padrão interno feito com materiais qualificados e procedimentos de medição.

Sensibilidade Analítica: 15 pg/mL (55 pmol/L)

Precisão: As amostras foram doseadas em duplicado durante 20 dias, 2 ensaios por dia, perfazendo um total de 40 ensaios e 80 réplicas. (Consulte a tabela "Precision".)

Perfil de Precisão: Numa série de estudos envolvendo 10 lotes de kits, amostras distribuidas na zona de trabalho foram ensaiadas em 10 ou 20 repetições por série. (Consulte o gráfico "Precision Profile".)

Linearidade: As amostras foram doseadas sob várias diluições. (Consulte a tabela "Linearity" para dados representativos.)

Recuperação: Às amostras foram adicionadas, na relação de 1 para 19, três soluções estradiol (800, 1440 e 4020 pg/mL) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

Especificidade: O antisoro foi obtido com derivado de estradiol na posição-6, e é altamente específico para o estradiol. (Ver tabela de "Specificity".)

Bilirrubina: A presença de bilirrubina em concentrações até 200 mg/L não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Biotina: As amostras que contenham biotina a uma concentração de 1500 ng/ml demonstram uma alteração igual ou inferior a 10% nos resultados. Concentrações de biotina superiores a esta poderão originar resultados incorretos para as amostras de doentes.

Hemolise: A Presença de eritrócitos em concentrações até 30 µL/mL não tem efeito no resultado, dentro da precisão do ensaio.

Lipémia: A presença de trigliceridos em concentrações até 3000 mg/dL pode interferir com a análise. (Vêr tabela de "Lipemia".)

Tipo de amostra alternativa: Para determinar o efeito de amostras alternativas, foi colhido sangue de 33 voluntários em tubos secos, heparinizados e tubos de vacum SST® da Becton Dickinson. A volumes iguais das mesmas amostras foram adicionadas várias concentrações de estradiol para obter valores ao longo da gama de calibração do ensaio. As amostras foram doseadas com o IMMULITE 2000 Estradiol.

(Heparina) = 0,98 (Soro) + 11 pg/mL
r = 0,996

(SST) = 0,98 (tubos simples) + 15 pg/mL
r = 0,994

Médias:
476 pg/mL (Soro)
477 pg/mL (Heparina)
482 pg/mL (SST)

Comparação de métodos: O doseamento foi comparado com o Estradiol IMMULITE em 97 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 20 a 1800 pg/mL. Ver gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 0,90 (IML) + 18 pg/mL
r = 0,990

Médias:
337 pg/mL (IMMULITE 2000)
354 pg/mL (IMMULITE)

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE is a trademark of
Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2018 Siemens Healthcare Diagnostics.
All rights reserved.

Made in: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis, Gwynedd
LL55 4EL
United Kingdom

CE

2018-03-15

PIL2KE2 – 31

cc#EU23262, cc#EU23262A, cc#EU23343

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol Definition

IVD

En: *In vitro* diagnostic medical device
De: Medizinisches Gerät zur *In-vitro* Diagnose
Es: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
Fr: Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
It: Dispositivo medico per diagnostica *in vitro*
Pt: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

REF

En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo

En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante

EC REP

En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia

CE

En: CE Mark
De: CE-Kennzeichen
Es: Marca CE
Fr: Marque CE
It: Marchio CE
Pt: Marca CE

Symbol Definition



En: CE Mark with identification number of notified body
De: CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle
Es: Marca CE con número de identificación del organismo notificado
Fr: Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié
It: Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato
Pt: Marca CE, com número de identificação do organismo notificado



En: Consult instructions for use
De: Bedienungshinweise beachten
Es: Consulte las instrucciones de uso
Fr: Consulter le mode d'emploi
It: Consultare le istruzioni per l'uso
Pt: Consulte as instruções de utilização

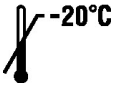


En: Caution! Potential Biohazard
De: Vorsicht! Biologisches Risikomaterial
Es: ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial
Fr: Avertissement ! Risque biologique potentiel
It: Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico
Pt: Atenção! Potenciais Riscos Biológicos



En: Temperature limitation (2–8°C)
De: Temperaturgrenze (2–8°C)
Es: Limitación de temperatura (2–8°C)
Fr: Limites de température (2–8°C)
It: Limiti di temperatura (2–8°C)
Pt: Limites de temperatura (2–8°C)

Symbol Definition



En: Upper limit of temperature (≤ -20°C)
De: Obere Temperaturgrenze (≤ -20°C)
Es: Límite superior de temperatura (≤ -20°C)
Fr: Limite supérieure de température (≤ -20°C)
It: Limite superiore di temperatura (≤ -20°C)
Pt: Limite máximo de temperatura (≤ -20°C)



En: Lower limit of temperature (≥ 2°C)
De: Mindesttemperatur (≥ 2°C)
Es: Límite inferior de temperatura (≥ 2°C)
Fr: Limite inférieure de température (≥ 2°C)
It: Limite inferiore di temperatura (≥ 2°C)
Pt: Limite mínimo de temperatura (≥ 2°C)



En: Do not freeze (> 0°C)
De: Nicht einfrieren (> 0°C)
Es: No congelar (> 0°C)
Fr: Ne pas congeler (> 0°C)
It: Non congelare (> 0°C)
Pt: Não congelar (> 0°C)



En: Do not reuse
De: Nicht zur Wiederverwendung
Es: No reutilizar
Fr: Ne pas réutiliser
It: Non riutilizzare
Pt: Não reutilizar



En: Keep away from sunlight
De: Vor Sonneneinstrahlung schützen
Es: Proteger de la luz solar
Fr: Maintenir hors de portée de la lumière du soleil
It: Non esporre alla luce del sole
Pt: Manter afastado da luz solar



En: Batch code
De: Chargenbezeichnung
Es: Número de lote
Fr: Numéro de code du lot
It: Codice lotto
Pt: Código de lote

Symbol	Definition
	**En:** Contains sufficient for (n) tests **De:** Es reicht für (n) Tests **Es:** Contiene suficiente para (n) pruebas **Fr:** Contient du matériel suffisant pour (n) tests **It:** Contiene materiale sufficiente per (n) test **Pt:** Contém o suficiente para (n) testes
2008-01	**En:** Date format (year-month) **De:** Datumsformat (Jahr-Monat) **Es:** Formato de fecha (año-mes) **Fr:** Format de la date (année-mois) **It:** Formato data (anno-mese) **Pt:** Formato de data (ano-mês)
	**En:** Use by **De:** Verwendbar bis **Es:** Fecha de caducidad **Fr:** A utiliser avant **It:** Usare entro **Pt:** Usar até
	**En:** Health Hazard **De:** Gesundheitsgefährdung **Es:** Peligro para la salud **Fr:** Dangereux pour la santé **It:** Pericolo per la salute **Pt:** Perigo para a saúde
	**En:** Exclamation Mark **De:** Ausrufezeichen **Es:** Signo de exclamación **Fr:** Point d'exclamation **It:** Punto esclamativo **Pt:** Ponto de exclamação
	**En:** Corrosion **De:** Korrosion **Es:** Corrosión **Fr:** Corrosion **It:** Corrosione **Pt:** Corrosão
	**En:** Skull and Crossbones **De:** Totenkopf mit gekreuzten Knochen **Es:** Calavera y tibias cruzadas **Fr:** Tête de mort sur tibias croisés **It:** Teschio e tibie incrociate **Pt:** Caveira sobre tíbias cruzadas

Symbol	Definition
	**En:** Environment **De:** Umwelt **Es:** Medio ambiente **Fr:** Environnement **It:** Ambiente **Pt:** Ambiente
BEAD PACK	**En:** Bead Pack **De:** Kugel-Container **Es:** Cartucho de bolas **Fr:** Cartouche de billes **It:** Contenitore di biglie **Pt:** Embalagem de esferas
TEST UNIT	**En:** Test Unit **De:** Testeinheit **Es:** Unidades de análisis **Fr:** Unité de test **It:** Test Unit **Pt:** Unidades de Teste
REAG WEDGE **REAG WEDGE A** **REAG WEDGE B** **REAG WEDGE D**	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto

Symbol	Definition
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL CONTROL 1 CONTROL 2 CONTROL 3	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo

Symbol	Definition
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

Free PSA

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 Free PSA

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the quantitative measurement of free, uncomplexed prostate-specific antigen (PSA), i.e. PSA not bound to α_1-antichymotrypsin or other binding proteins, in serum.

Catalog Number: **L2KPF2** (200 tests)

Test Code: **fPS** Color: **Light Gray**

> The concentration of free PSA in a given specimen determined with different assays can vary due to the differences in assay methods and reagent specificity. The results reported by the laboratory to the physician must include the identity of the assay used. Values obtained with different PSA assays can not be used interchangably. Before changing assays, the laboratory must confirm the baseline values for patients being serially monitored.

Summary and Explanation

Since the inception of prostate-specific antigen (PSA) measurements by immunoassay, it has been observed that several distinct immunoreactive species could be isolated from the serum of prostate cancer (PCa) patients after molecular sieve chromatography.[1] PSA has been shown to form stable complexes with two of the major extracellular protease inhibitors in blood, α_1-antichymotrypsin (ACT) and α_2-macroglobulin (AMG).[4] In prostate cancer patients, PSA complexed with ACT (PSA-ACT) is typically the major form in circulation: for about 50% of these patients, PSA-ACT accounts for 85% of the total PSA present. Some 12–15% of prostate cancer patients, on the other hand, present with free (that is, uncomplexed) PSA as the predominant form.[2]

Biochemical studies of PSA isolated from seminal plasma show that approximately 35% is free, being enzymatically inactive and unreactive with protease inhibitors.[3] According to current hypotheses, this form of the molecule represents *either* an inactive zymogen of PSA *or* a nicked or enzymatically inactive form.

Complex formation with ACT results in exposure of a limited number of the antigenic epitopes of PSA, whereas complex formation with AMG encapsulates the antigenic epitopes of PSA. Differences in recognition of these multiple forms of PSA by reagent antibodies have contributed to discrepancies between commercial PSA assays.[4]

Immunometric assays have now been designed to selectively characterize all the molecular forms of PSA in circulation: some detect just PSA-ACT, others just free PSA, and some are considered to be assays for total PSA, detecting PSA epitopes available both on free (uncomplexed) PSA and on PSA complexed to serine protease inhibitors.

Using assays such as these, free PSA was found to comprise a significantly ($p < 0.0001$) smaller fraction of the total PSA concentration in patients with untreated PCa than in patients with benign prostatic hypertrophy (BPH).[2]

A substantial body of literature indicates the benefit of combining free and total PSA in the form of a ratio, facilitating discrimination between PCa and BPH. These determinations must be made using assays developed by the same manufacturer.[14,15] The free-to-total ratio (% free PSA) is typically expressed as a percent: $100 \times$ free PSA / total PSA, with both measured in ng/mL. The % free PSA is, on average, lower in PCa than in BPH and has been commonly used as an aid in PCa diagnosis when the total PSA concentration falls in the “gray zone”, that is, between 4 and 10 ng/mL.[16–19] While a lower cutoff might result in fewer false-positive results, a higher cutoff is less likely to miss actual instances of PCa. The % free PSA has also been investigated in the wider total PSA concentration range of 2.0 to 20 ng/mL.[15,17,18,20]

The optimal % free PSA cutoff depends on other factors as well, one of which is the prostate and/or transition zone volume measured by transrectal ultrasound (TRUS).[21,22] Age is another factor: while both free and total PSA rise with advancing age, the % free PSA decreases.[23] More complex approaches employing artificial neural networks (ANNs) take these parameters and others into account, e.g., the results of a digital rectal exam (DRE). Using an ANN can significantly increase discrimination between BPH and PCa.[24]

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 Free PSA is a solid-phase, sequential chemiluminescent immunometric assay.

The solid phase (bead) is coated with monoclonal murine anti-PSA antibody specific for free (uncomplexed) PSA. The patient sample is incubated with the bead during the first cycle at which time free PSA in the sample binds to the free PSA-specific monoclonal antibody-coated bead. Unbound serum is then removed by a centrifugal wash. Alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to a goat anti-PSA polyclonal antibody in the reagent is introduced in the second cycle and binds to free PSA on the bead to form an antibody-sandwich complex. Unbound enzyme conjugate is then removed by a centrifugal wash. Finally, chemiluminescent substrate is added to the bead and signal is generated in proportion to the bound enzyme.

Incubation Cycles: 2 × 30 minutes
Time to first result: 65 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 PSA 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: 25 µL serum

Storage: 24 hours at 2–8°C or for longer at –20°C.[29,30]

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use only.



CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD
Contains human source material. Each donation of human blood or blood component was tested by FDA-approved methods for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) as well as for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis C virus (HCV). The test results were negative (not repeatedly reactive). No test offers complete assurance that these or other infectious agents are absent; this material should be handled using good laboratory practices and universal precautions.[26-28]

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.



H302 + H312, H412

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

Warning! Harmful if swallowed or in contact with skin. Harmful to aquatic life with long lasting effects. Wear protective gloves/ protective clothing/eye protection/face protection. Avoid release to the environment. IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell. IF ON SKIN: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell. Dispose of contents and container in accordance with all local, regional, and national regulations.
Contains: sodium azide; Free PSA Adjustors

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. The barcode labels are needed for the assay.

Free PSA Bead Pack (L2PF12)
With barcode. 200 beads, coated with monoclonal murine anti-PSA antibody specific for free (uncomplexed) PSA. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KPF2: 1 pack

Free PSA Reagent Wedge (L2PFA2)
With barcodes.11.5 mL of a protein buffer matrix, with preservative; 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to polyclonal goat anti-PSA antibody specific for PSA in a buffer containing human serum, with preservative. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KPF2: 1 wedge

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 PSA Adjustors (LPFL, LPFH)
Two vials (Low and High) of lyophilized free PSA in a buffer solution, 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.
L2KPF2: 1 set

Before making an adjustment, place the appropriate Aliquot Labels (supplied with the kit) on test tubes so that the barcodes can be read by the on-board reader.

Kit Components Supplied Separately

Multi-Diluent 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
For the on-board dilution of patient samples. One vial, concentrated (ready-to-use), nonhuman protein/buffer matrix, with preservative. Storage: 30 days (after opening) at 2–8°C or 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2M2Z: 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.
L2M2Z: 3 labels **L2M2Z4:** 5 labels

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate
L2PWSM: Probe Wash
L2KPM: Probe Cleaning Kit
LRXT: Reaction Tubes (disposable)
L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

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 Systems Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval: 2 weeks

Quality Control Samples: Follow government regulations or accreditation requirements for quality control frequency.

Use controls or sample pools with at least two levels (low and high) of free PSA.

Siemens Healthcare Diagnostics recommends the use of commercially available quality control materials with at least 2 levels (low and high). A satisfactory level of performance is achieved when the analyte values obtained are within the Acceptable Control Range for the system, or within an established range determined by an appropriate internal laboratory quality control scheme.

Expected Values

Based on its relationship to IMMULITE Free PSA (see Method Comparison), the assay can be expected to have essentially the same reference ranges.

A reference range study for IMMULITE Free PSA was performed using serum samples from adult volunteers, including men ranging from approximately 20 to 70 years of age (central 95%: 22–64 years, median: 40 years). The subjects were in apparent good health, based on a questionnaire.

Blood samples were collected in France, Germany, the Netherlands and Portugal. Results were generated by an independent laboratory in the Netherlands using IMMULITE kits. (The samples were collected in plain glass tubes without anticoagulants, gel barriers, or clot-promoting additives, and assayed in singlicate.)

Medians and 95th percentiles are tabulated below. Percentiles were determined nonparametrically.

Group	Median	95%ile	Units	*n*
Males	0.14	0.42	ng/mL	425

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

Limitations

Serum PSA concentrations should not be interpreted as absolute evidence for the presence or absence of malignant disease.[9]

Prediction of malignant prostatic disease recurrence should be based on a complete clinical evaluation of the patient, which may also include serial serum PSA determinations.

Samples should be obtained before biopsy, prostatectomy or prostatic massage.[10]

PSA expression may be altered due to hormonal therapy for prostate cancer. Consequently, a low PSA result following a prostatic cancer treatment which includes hormonal therapy may not adequately reflect the presence of residual or recurrent disease.[13]

The accuracy of free PSA assays cannot be evaluated by determining the recovery of free PSA spiked into serum samples, because the formation of complexes between free PSA and the PSA-binding proteins present in normal sera (α_1-antichymotrypsin and α_2-macroglobulin) will generally cause erroneously low recoveries.

Some individuals have antibodies to mouse protein which can cause interference in immunoassays that employ antibodies derived from mice. Specimens from patients who have received preparations of mouse monoclonal antibodies for diagnosis or therapy, in particular, may contain human anti-mouse antibodies (HAMA). These specimens may show erroneous results in such assays.[6-8] Therefore, IMMULITE 2000 Free PSA results should be used only in conjunction with results from some other diagnostic procedure and information available from the clinical evaluation of the patient.

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.)

Reportable Range: 0.07 to 25 ng/mL (WHO NIBSC 1st IS 96/668)

Analytical Sensitivity: Limit of Blank (highest value expected for a sample with no analyte; calculated as the value lying two standard deviations above that of the lowest calibration): 0.02 ng/mL

Limit of Detection (lowest detectable concentration; determined in accordance with CLSI EP17-A[25]): 0.07 ng/mL

Functional Sensitivity: (concentration with 20% coefficient of variation (CV) determined in accordance with CLSI EP17-A[25]): 0.07 ng/mL

High-dose Hook Effect:
None up to 15,118 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.)

Specificity: IMMULITE 2000 Free PSA is highly specific for prostate-specific antigen, with a particularly low crossreactivity to other naturally occurring compounds that might be present in patient samples. (See "Specificity" table.)

Bilirubin: Presence of bilirubin in concentrations up to 200 mg/L has no effect on results, within the precision of the assay.

Biotin: Specimens that contain biotin at a concentration of 3500 ng/mL demonstrate a less than or equal to 10% change in results.

Hemolysis: Presence of packed red blood cells in concentrations up to 30 µL/mL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 3000 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 15 volunteers into plain, heparinized, EDTA and Becton Dickinson SST® vacutainer tubes. All samples were assayed by the IMMULITE 2000 Free PSA procedure. By linear regression:

(Heparin) = 1.04 (Serum) – 0.19 ng/mL
r = 0.997

(EDTA) = 1.03 (Serum) – 0.19 ng/mL
r = 0.998

(SST) = 1.08 (Plain Tubes) – 0.28 ng/mL
r = 0.99

Means:
37 ng/mL (Heparin)
37 ng/mL (EDTA)
38 ng/mL (SST)
36 ng/mL (Serum)

Method Comparison: The assay was compared to IMMULITE Free PSA on 184 samples. (Concentration range: approximately 0.07 to 25 ng/mL. See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 1.04 (IML) – 0.08 ng/mL
r = 0.998

Means:
2.37 ng/mL (IMMULITE 2000)
2.35 ng/mL (IMMULITE)

References

1) Chu TM, et al. Circulating antibody to prostate antigen in patients with prostatic cancer. Ann NY Acad Sci 1983;417: 383-9. 2) Lilja H, et al. Prostate-specific antigen in serum occurs predominantly in complex with α_1-antichymotrypsin. Clin Chem 1991;37: 1618-24. 3) Christensson A, Laurell CB, Lilja H. Enzymatic activity of prostate-specific antigen and its reactions with extrecellular serine protease inhibitors. Eur J Biochem 1990;1994:755-63. 4) Zhou AM, et al. Multiple forms of prostate-specific antigen in serum: differences in immunorecognition by monoclonal and polyclonal assays. Clin Chem 1993;39:2483-91. 5) Jacobs DS, Grady HD, editors. Laboratory Test Handbook. 4th ed. Hudson (Cleveland): Lexi-Comp Inc., 1996; 193. 6) Primus FJ, et al. "Sandwich"-type immunoassay of carcinoembryonic antigen in patients receiving murine antibody for diagnosis and therapy. Clin Chem 1988;34:261-4. 7) Hansen HJ, et al. Solving the problem of antibody interference in commercial "sandwich"-type immunoassay of carcinoembryonic antigen. Clin Chem 1989;35:146-51. 8) Schroff RJ, et al. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. Cancer Res 1985;45:879-85. 9) Kuriyama M, et al. Quantitation of prostate-specific antigen in serum by a sensitive enyzme immunoassay. Cancer Res 1980;40:4658-62. 10) Stamey TA, Yang N, et al. Prostate specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. N Engl J Med 1987;317:909-16. 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) Sensabaugh GF, Crim D. Isolation and characterization of a semen-specific protein from human seminal plasma: a potential new marker for semen identification. J Forensic Sci 1978;23:106-15. 13) Morgan WR et al. Prostate specific antigen values after radical retropubic prostatectomy for adenocarcinoma of the prostate: impact of adjuvant treatment (hormonal and radiation). J Urol 1991;145:319-23. 14) Wolff JM, Stocker G, Borchers H, Haubeck H, Greiling H, Jakse G. Critical aspects related to the interpretation of the free-to-total PSA-ratio. Anticancer Res 1999;19:2633-6. 15) Patel D, White PA, Milford Ward A. A comparison of six commercial assays for total and free prostate specific antigen (PSA): the predictive value of the ratio of free to total PSA. BJU Int 2000;85:686-9. 16) Correale M, Pagliarulo A, Donatuti G, Sturda F, Capobianco AM, Stigliani V, et al. Preliminary clinical evaluation of free/total PSA ratio by the IMMULITE system. Int J Biol Markers 1996;11:24-8. 17) Wymenga LF, Duisterwinkel FJ, Groenier K, Visser-van Brummen P, Marrink J, Mensink HJ. Clinical implications of free-to-total immunoreactive prostate-specific antigen ratios. Scand J Urol Nephrol 2000;34:181-7. 18) McArdle PA, Pollock MA, Wallace AM, McMillan DC, Crooks JE, Underwood MA. Comparison of total, complexed and free prostate-specific antigens and their ratios in the detection of prostate cancer in a non-screened population. Ann Clin Biochem 2004;41:201-6. 19) Martinez-Pineiro L, Garcia Mediero JM, Gonzalez Gancedo P, Tabernero A, Lozano D, et al. Probability of prostate cancer as a function of the percentage of free prostate-specific antigen in patients with a non-suspicious rectal examination and total prostate-specific antigen of 4-10 ng/ml. World J Urol 2004;22:124-31. 20) Wesseling S, Stephan C, Semjonow A, Lein M, Brux B, Sinha P, et al. Determination of non-alpha1-antichymotrypsin-complexed prostate-specific antigen as an indirect measurement of free prostate-specific antigen: analytical performance and diagnostic accuracy. Clin Chem 2003;49:887-94. 21) Stephan C, Lein M, Jung K, Schnorr D, Loening SA. The influence of prostate volume on the ratio of free to total prostate specific antigen in serum of patients with prostate carcinoma and benign prostate hyperplasia. Cancer 1997 Jan;79:104-9. 22) Stamey TA, Yemoto CE. Examination of the 3 molecular forms of serum prostate specific antigen for distinguishing negative from positive biopsy: relationship to transition zone volume. J Urol 2000;163:119-26. 23) Wolff JM, Borchers H, Rohde D, Jakse G. Age related changes of free and total prostate specific antigen in serum. Anticancer Res 1999;19:2629-32. 24) Stephan C, Cammann H, Semjonow A, Diamandis EP, Wymenga LF, Lein M, et al. Multicenter evaluation of an artificial neural network to increase the prostate cancer detection rate and reduce unnecessary biopsies. Clin Chem 2002;48:1279-87. 25) CLSI. Protocols for the Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI document EP17-A Vol 24 (No 34). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA, 2004. 26) Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. MMWR, 1988;37:377–82, 387–8. 27) Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3. 28) Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030. 29) Woodrum D, French C, Shamel LB. Stability of free prostate-specific antigen in serum samples under a variety of sample collection and sample storage conditions. Urology 1996;48(6A):33-39. 30) Woodrum D, York L. Two-year stability of

free and total PSA in frozen serum samples. Urology 1998;52(2):247-251.

Technical Assistance

Available outside the United States only. For technical assistance, contact your National Distributor.

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of
Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd.
is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

Precision (ng/mL)

		Within-Run[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	0.83	0.046	5.5%	0.051	6.1%
2	2.0	0.096	4.8%	0.11	5.5%
3	5.9	0.22	3.7%	0.24	4.1%
4	9.3	0.30	3.2 %	0.31	3.3%
5	21	0.87	4.1%	0.91	4.3%

Specificity

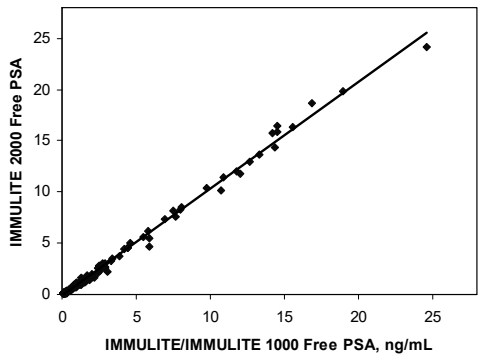
Compound[1]	Amount Added[2]	Percent Cross-reactivity[3]
AFP	10,000 ng/mL	ND
CEA	100 ng/mL	ND
Ferritin	10,000 ng/mL	ND
HCG	100,000 mIU/mL	ND
Lactalbumin	10,000,000 ng/mL	ND
PAP	1000 ng/mL	ND
Prolactin	200 ng/mL	ND

ND: not detectable[4]

Linearity (ng/mL)

	Dilution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	4 in 4	0.36	—	—
	2 in 4	0.17	0.18	94%
	1 in 4	0.09	0.09	100%
2	16 in 16[5]	2.9	—	—
	8 in 16	1.5	1.5	100%
	4 in 16	0.72	0.73	99%
	2 in 16	0.33	0.36	92%
	1 in 16	0.15	0.18	83%
3	16 in 16	5.1	—	—
	8 in 16	2.6	2.6	100%
	4 in 16	1.3	1.3	100%
	2 in 16	0.61	0.64	95%
	1 in 16	0.29	0.32	91%
4	16 in 16	8.3	—	—
	8 in 16	4.1	4.2	98%
	4 in 16	2.1	2.1	100%
	2 in 16	1.1	1.0	110%
	1 in 16	0.48	0.52	92%
5	16 in 16	13	—	—
	8 in 16	6.4	6.5	99%
	4 in 16	3.2	3.3	97%
	2 in 16	1.6	1.6	100%
	1 in 16	0.81	0.81	100%
6	16 in 16	20	—	—
	8 in 16	9.7	10.0	97%
	4 in 16	5.0	5.0	100%
	2 in 16	2.5	2.5	100%
	1 in 16	1.3	1.3	100%

Method Comparison



(IML 2000) = 1.04 (IML) – 0.08 ng/mL
r = 0.998

Deutsch. **Precision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]S (Standardabweichung), [5]CV (Variationskoeffizient). **Linearity**: [1]Verdünnung, [2]Beobachtet (B), [3]Erwartet (E), [4]% B/E, [5]16 in 16. **Specificity**:[1]Verbindung, [2]zugesetzte Menge, [3]% Kreuzreaktivität, [4]NN: Nicht nachweisbar. **Method Comparison**: Free PSA.

Español. **Precision**: [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV. **Linearity**: [1]Dilución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]16 en 16. **Specificity**: [1]Compuesto, [2]Cantidad añadida, [3]% Reacción cruzada, [4]ND: no detectable. **Method Comparison**: Free PSA.

Français. **Precision**: [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]SD, [5]CV. **Linearity**: [1]Dilution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A, [5]16 dans 16. **Specificity**: [1]Composé, [2]ajouté, [3]Réaction croisée %. [4]ND: non détectable. **Method Comparison**: Free PSA.

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity**: [1]Diluizione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A, [5]16 in 16. **Specificity**: [1]Composto, [2]quantità aggiunta, [3]Percentuale di Crossreattività, [4]ND: non determinabile. **Method Comparison**: Free PSA.

Português. **Precision**: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação. **Linearity**: [1]Diluição, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]16 em 16. **Specificity**: [1]Composto, [2]Quantidade adicionada, [3]Percentagem de reacção cruzada, [4]ND: não detectável. [3]Percentagem de reacção cruzada, [4]ND: não detectável. **Method Comparison**: Free PSA.

Deutsch

Freies PSA - IMMULITE 2000

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme — zur quantitativen Messung von freiem, nicht komplexiertem Prostataspezifischem Antigen (PSA) im Serum, (d.h. von nicht an α_1-Antichymotrypsin oder andere Bindeproteine gebundenem PSA).

Artikelnummern: **L2KPF2** (200 tests)

Testcode: **fPS** Farbe: **hellgrau**

Unterschiede in der jeweiligen Methodik oder der Spezifität der Reagenzien können dazu führen, das die mit Testsystemen von verschiedenen Herstellern ermittelten Konzentrationen an freies PSA für dieselben Proben nicht einheitlich sind. In den vom Labor an den Arzt gemeldeten Ergebnissen muss das verwendete Testsystem ausgewiesen werden. Die mit verschiedenen freies PSA-Testsystemen erzielten Werte sind nicht austauschbar. Vor dem Umstieg auf ein anderes Testsystem müssen die Basiswerte für die seriell überwachten Patienten vom Labor verifiziert werden.

Klinische Relevanz

Seit dem Beginn der Messungen von Prostataspezifischem Antigen (PSA) durch Immunoassays wurde beobachtet, dass aus dem Serum von Prostatakarzinom (PCa)-patienten mittels Gelfiltration verschiedene PSA-Spezies mit unterschiedlicher Immunreaktivität isoliert werden konnten.[1] Dabei bildet PSA stabile Komplexe mit zwei der wichtigsten extrazellulären Proteaseinhibitoren des Blutes- dem α_1-Antichymotrypsin (ACT) und α_2-Makroglobulin (AMG).[4] Bei Patienten mit Prostatakarzinom ist das ACT-komplexierte PSA die häufigste im Serum auftretende Form; bei 50 % dieser Patienten liegen 85% des gesamten PSA des Serums als ACT-PSA vor. Bei 12–15 % der Prostatakarzinompatienten läßt sich jedoch das freie, d.h. das nichtkomplexierte PSA als dominante Fraktion des Serums nachweisen.[2]

Biochemische Studien an aus Seminalplasma isoliertem PSA zeigten, daß ca. 35 % des PSA ungebunden vorliegt. Es ist enzymatisch nicht aktiv und reagiert nicht mit Proteaseinhibitoren.[3] Heute wird vermutet, daß diese Form entweder ein inaktives Zymogen des PSA oder eine andere enzymatisch inaktive Form repräsentiert.

Die Komplexbildung mit ACT führt zur Präsentation einer begrenzten Zahl von Antigendeterminanten auf dem PSA, während diese im Komplex des PSA mit AMG maskiert sind. Die unterschiedliche Detektion dieser multiplen Formen des PSA durch verschiedene Antikörper hat zu

den bekannten Diskrepanzen zwischen den PSA-Assays verschiedener Hersteller geführt.[4]

Für die Messung aller molekularer Formen des PSA stehen immunometrische Nachweismethoden zur Verfügung: einige messen ausschließlich den PSA-ACT-Komplex andere dagegen nur freies PSA. Mit weiteren Tests wird das Gesamt-PSA gemessen; diese Tests erfassen Epitope, die sowohl auf freiem als auch auf komplexiertem PSA präsentiert werden.

Beim Gebrauch von Assays wie diesem, wurde bei unbehandelten PCa-Patienten freies PSA mit einem signifikant kleineren Anteil ($p < 0,0001$) an der Gesamt-PSA Konzentration gemessen als bei Patienten mit benigner Prostatahyperplasie (BPH).[2]

Ein substantieller Anteil der Literatur verweist auf den Vorteil freies und Gesamt PSA als prozentuales Verhältnis anzugeben, was die Diskriminierung zwischen PCa und BPH Patienten wesentlich erleichtert. Diese Bestimmungen müssen mit Assays vom selben Hersteller durchgeführt werden.[14,15] Das Verhältnis freies PSA zu Gesamt-PSA (% freies PSA) wird typischerweise in Prozent angegeben: 100 × freies PSA/Gesamt-PSA, wobei beide in ng/ml gemessen werden. Der Prozentanteil des freien PSA ist im Durchschnitt niedriger bei PCa als bei BPH und wird gewöhnlicherweise als eine Hilfe in der PCa-Diagnostik genutzt, wenn die Gesamt PSA Konzentration in die sogenannte Grauzone zwischen 4 und 10 ng/ml fällt.[16-19] Während ein niedrigerer cutoff zu weniger falsch-positiven Ergebnissen führen könnte, ist es bei einem höheren Cutoff weniger wahrscheinlich, dass vorliegende Fälle von PCa übersehen werden. Der prozentuale Anteil an freiem PSA wurde auch für den weiteren Konzentrationsbereich 2–20 ng/ml Gesamt-PSA untersucht.[15,17,18,20]

Der optimale cutoff für den prozentualen Anteil des freien PSA hängt noch von anderen Faktoren ab. Einer davon ist das Prostata- und/oder Randzonen Volumen, das mittels transrektalem Ultraschall gemessen wird.[21,22] Das Alter ist ein weiterer Faktor: während mit fortschreitendem Alter das freie- und das Gesamt-PSA ansteigen, wird der prozentuale Anteil an freiem PSA geringer.[23] Komplexe Ansätze, unter Mithilfe artifizieller neuronaler Netzwerke, integrieren die oben genannten und weitere Parameter in die Berechnung, z.B. die Ergebnisse einer digitalen rektalen Untersuchung (DRE). Der Gebrauch eines ANN kann die Diskriminierung zwischen BPH und PCa signifikant verbessern.[24]

Methodik

Der IMMULITE 2000 Freies PSA ist ein sequentieller Festphasen Cemilumineszenz- Immunometrischer Assay.

Die feste Phase (Kugel) ist mit einem monoklonalen Anti-PSA Antikörper von der Maus beschichtet, der spezifisch für freies (unkomplexiertes) PSA ist. Im ersten Zyklus wird die Patientenprobe mit der Kugel inkubiert. In dieser Zeit bindet das freie PSA in der Patientenprobe an die mit monoklonalen Antikörpern spezifisch für freies PSA beschichtete Kugel. Ungebundenes Serum wird durch einen Zentrifugal-Waschschritt entfernt. Im zweiten Zyklus wird ein polyklonaler Anti-PSA Antikörper von der Ziege zugegeben, der mit alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugiert ist. Dieser bindet an das freie PSA an der Kugel, es bildet sich ein Antikörper-Sandwich-Komplex. Ungebundenes Enzymkonjugat wird anschließend durch einen Zentrifugal-Waschschritt entfernt. Zuletzt wird Chemilumineszenz-Substrat zur Kugel hinzugefügt und das Messsignal wird proportional zum gebundenen Enzym gebildet.

Inkubationszyklen: 2 × 30 Minuten
Zeit zum ersten Ergebnis: 65 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 zurückhaltend zu interpretieren.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist

sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter 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 PSA sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 25 µl Serum

Lagerung: 24 Stunden bei 2–8°C, oder zur längeren Lagerung bei –20°C.[29,30]

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Ausschließlich *in vitro*-Diagnostik zu verwenden.



VORSICHT! BIOLOGISCHES RISIKOMATERIAL
Enthält Material humanen Ursprungs. Alle Blutspenden oder Blutkomponenten menschlicher Herkunft wurden nach FDA-genehmigten Methoden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die HI-Viren Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2) sowie von Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und Antikörpern gegen den Hepatitis C-Virus (HCV) getestet. Die Testergebnisse waren negativ (nicht wiederholt reaktiv). Durch keinen Test kann das Vorhandensein dieser oder anderer infektiöser Stoffe vollständig ausgeschlossen werden. Dieses Material ist mit den üblichen Vorsichtsmaß-nahmen und gemäß der allgemein anerkannten guten Laborpraxis zu handhaben.[26-28]

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.



H302 + H312, H412

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

Warnung!
Gesundheitsschädlich bei Verschlucken oder Hautkontakt. Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen. Freisetzung in die Umwelt vermeiden. BEI VERSCHLUCKEN: Bei Unwohlsein GIFTINFOR-MATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONS-ZENTRUM oder Arzt anrufen. Inhalt und Behälter sind in Übereinstimmung mit den gesetzlichen Bestimmungen zu entsorgen.
Enthält: Natriumazid; Freies PSA - Kalibratoren

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 PSA Kugel-Container (L2PF12)
Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit monoklonalen anti-PSA Antikörper (Maus) spezifisch für freies (unkomplexiertes) PSA. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KPF2: 1 Container

Freies PSA - Reagenzbehälter (L2PFA2)
Mit Barcode. 11,5 ml Protein/Puffermatrix mit Konservierungsmittel. 11,5 ml alkalische Phophatase (Kalb) konjugiert mit polyklonalen anti-PSA Antikörpern (Ziege) in Humanserum Pufferlösung, mit Konservierungsmittel. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KPF2: 1 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 PSA - Kalibratoren (LPFL, LPFH)
Zwei Fläschchen (Low und High) mit lyophilisiertem freiem PSA, in einer Pufferlösung (mit Konservierungsmittel). 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.
L2KPF2: 1 Set

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Röhrchen kleben, so dass die Barcodes vom Barcodereader des Systems gelesen werden können.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

Multidiluent 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Zur on-board Verdünnung von Patientproben. Ein Fläschchen enthält eine (gebrauchsfertig ausgeliefert) nichthumane Protein/ Puffer-Matrix, mit Konservierungsmittel. Nach dem Öffnen 30 Tage bei 2–8°C, sonst 6 Monate (aliquotiert) bei –20°C haltbar.
L2M2Z: 25 ml **L2M2Z4:** 55 ml

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2M2Z: 3 Etiketten **L2M2Z4:** 5 Etiketten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße
L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm) für die Probenverdünnung
L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Teströhrchen; Kontrollen

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Verdünnung, Kalibration, Test- und Qualitätskontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
2 Wochen

Proben zur Qualitätskontrolle: Jeweils gültige gesetzlichen Bestimmungen oder Akkreditierungsanforderungen sind bei der Festlegung der Intervalle zur Durchführung der Qualitätskontrollen zu berücksichtigen.

Kontrollen oder Poolseren mit freiem PSA in mindestens zwei Konzentrationen (niedrig und hoch) verwenden.

Siemens Healthcare Diagnostics empfiehlt die Verwendung von kommerziell verfügbaren Qualitätskontrollen in mindestens 2 Konzentrationen (niedrig und hoch). Der Systembetrieb gilt dann als zufriedenstellend, wenn die Analytwerte innerhalb des für das System zulässigen Kontrollbereichs oder des für die laborinternen Qualitätskontrollverfahren festgelegten zulässigen Bereichs liegen.

Referenzwerte

Entsprechend seinem Verhältnis zum IMMULITE- Free PSA -Testsystem (siehe „Method Comparison“ // „Methodenvergleich”) kann im wesentlichen von denselben Referenzbereichen ausgegangen werden.

Im Rahmen einer europäischen Multicenter-Studie für den IMMULITE freies PSA wurden die Proben gesunder, erwachsener Probanden im Alter von 20 bis 70 Jahren (95 %-tile 22–64 Jahre, Median 40 Jahre) untersucht.

Die aus Frankreich, Deutschland, den Niederlanden und Portugal stammenden Blutproben (Abnahme in Glasröhrchen ohne Zusatz von Antikoagulanzien, Trenngelen oder Gerinnungszusätzen) wurden in einem unabhängigen Labor in den Niederlanden in Einzelbestimmungen untersucht. (Die Proben wurden in einfache Röhrchen ohne Anti-koagulanzien, Geltrennung oder gerinnungsfördernde Zusätze gesammelt und in Einfachbestimmung gemessen.)

Der Medianwert sowie die 95 % Perzentile sind unten aufgeführt. Die Perzentile wurden nonparametrisch bestimmt.

Patienten-kollektiv	Median	95%ile	Einheit	*n*
Männer	0,14	0,42	ng/ml	425

Diese Grenzwerte sind lediglich als *Richtlinien* aufzufassen. Jedes Labor sollte seine eigenen Referenzbereiche etablieren.

Grenzen der Methode

Die Serum-Konzentration des PSA sollte nicht als alleiniges diagnostisches Kriterium für das Vorliegen einer malignen Erkrankung interpretiert werden.[9]

Aussagen zur Rezidivierung einer malignen Erkrankung der Prostata sollten sich stets auf alle verfügbaren klinischen Daten des Patienten einschließlich Verlaufsuntersuchungen der Serumkonzentration des PSA stützen.

Die Proben sollten vor einer rektalen Untersuchung, Biopsie, Prostatektomie oder Massage der Prostata entnommen werden.[10]

Die Freisetzung von PSA kann unter dem Einfluss einer Hormontherapie des Prostatakarzinoms schwanken. Möglicherweise reflektiert ein niedriger PSA-Wert nach Behandlung des Prostata-CA und hormoneller Therapie eventuell vorhandenes Restgewebe oder ein Rezidiv nicht völlig korrekt.[13]

Wegen der Komplexbildung von freiem PSA mit den in einer normalen Probe vorhanden PSA-bindenden Proteinen (α_1-Antichymotrypsin und α_2-Makroglobulin), kann die Richtigkeit des freien PSA Assays kann nicht durch die Bestimmung der Wiederfindung einer angereicherten Patientenrobe erfolgen, da hierbei generell falsch erniedrigte Wiederfindungsraten zu erwarten sind.

Seren von Patienten mit Antikörpern gegen Maus-Proteine können in Immunoassays, die Antikörper von der Maus enthalten, Interferenzen zeigen. Dies gilt besonders für Patienten, die mit monoklonalen Maus-Antikörpern während Diagnose oder Therapie behandelt wurden und dadurch sog. HAMA's (Humane-Anti-Maus-Antikörper) entwickelt haben. Hierdurch können die Resultate des jeweiligen Assays verfälscht werden.[6-8] Deaher sollten die mit dem IMMULITE 2000 gemessenen Konzentrationen an freiem PSA ausschließlich in Verbindung mit den Ergebnissen ander diagnostischer Parameter und allen verfügbaren klinischen Informationen verwendet werden.

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 ausgedrückt. (Alle Daten wurden – sofern nicht anders angegeben – aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Messbereich: 0,07–25 ng/ml
(WHO NIBSC 1st IS 96/668)

Analytische Sensitivität: Analytische Sensitivität (entspricht der höchsten zu erwartenden Konzentration für analytfreie Proben; wird als die Konzentration berechnet, die zwei Standardabweichungen über der der niedrigsten Kalibration liegt): 0,02 ng/ml

Untere Nachweisgrenze (niedrigste nachweisbare Konzentration; Bestimmung gemäß CLSI EP17-A[25]): 0,07 ng/ml

Funktionelle Sensitivität: (Konzentration mit einem Variationskoeffizient von 20 %, Bestimmung gemäß CLSI EP17-A[25]): 0,07 ng/ml

High High-Dose-Hook-Effect:
Bis 15 118 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. (Repräsentative Daten entnehmen sie bitte der Tabelle „Linearity“.)

Spezifität: Der IMMULITE 2000 Freies PSA-Assay ist hochspezifisch für PSA mit vernachlässigbar niedriger Kreuzreaktivität zu anderen, im Serum vorkommenden natürlichen Substanzen. (Siehe Tabelle ”Specificity”.)

Bilirubin: Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Biotin: Proben, die Biotin in einer Konzentration von 3500 ng/ml enthalten, zeigen eine Veränderung der Ergebnisse von kleiner oder gleich 10 %.

Hämolyse: Erythrozytenkonzentrate haben in Konzentrationen bis zu 30 µl/ml keinen Einfluss auf die Messung, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride hat in Konzentrationen bis zu 3000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays

Alternativer Probentyp: Um die Auswirkungen von verschiedenen Probenarten zu untersuchen, wurde Blut von 15 Freiwilligen in Röhrchen ohne Additiva, in Heparin-, EDTA- und Becton Dickinson SST Vacutainer-Röhrchen gesammelt. Alle Proben wurden im IMMULITE 2000 Assay für Freies PSA gemessen. Durch lineare Regression:

(Heparin) = 1,04 (Serum) – 0,19 ng/ml
r = 0,997

(EDTA) = 1,03 (Serum) – 0,19 ng/ml
r = 0,998

(SST) = 1,08 (einfachen Röhrchen) – 0,28 ng/ml
r = 0,99

Mittelwerte:
37 ng/ml (Heparin)
37 ng/ml (EDTA)
38 ng/ml (SST)
36 ng/ml (Serum)

Methodenvergleich: Der Assay wurde unter Verwendung von 184 Patientenproben mit dem IMMULITE Freies PSA Assay verglichen. (Konzentrationsbereich ca. 0,07–25 ng/ml. Siehe Grafik.) Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 1,04 (IML) – 0,08 ng/ml
r = 0,998

Mittelwert:
2,37 ng/ml (IMMULITE 2000)
2,35 ng/ml (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

IMMULITE 2000 PSA Libre

Utilidad del análisis: Para el uso diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE 2000 — para la medición cuantitativa del antígeno prostático específico libre, no acomplejado (PSA), es decir el PSA no unido a α_1-antiquimotripsina u otras proteínas transportadoras, en suero.

Referencia: **L2KPF2** (200 tests)

Código del Test: **fPS**
Código de Color: **Gris Claro**

La concentración de PSA Libre para un espécimen determinado con diferentes ensayos puede variar debido a las diferencias en el método de ensayo y a la especificidad de los reactivos. Los resultados emitidos por un laboratorio deben incluir la identidad del ensayo utilizado. Los valores de PSA obtenidos con diferentes ensayos no son intercambiables. Antes de cambiar de método, el laboratorio debe confirmar los valores de los pacientes que se están monitorizando seriadamente.

Resumen y Explicación del Test

Desde la introducción de determinaciones por inmunoensayo del antígeno específico de próstata (PSA), se ha observado la existencia de varias formas inmunoreactivas en el suero de pacientes con cáncer de próstata (PCa) mediante cromatografía[1]. Se ha demostrado que el PSA forma complejos estables con dos de los principales inhibidores de las proteasas extracelulares en la sangre, α_1-antiquimiotripsina (ACT) y α_2-macroglobulina (AMG)[4]. En pacientes con cáncer prostático, el PSA unido a ACT (PSA-ACT) es generalmente la principal forma de PSA circulante: aproximadamente en un 50% de estos pacientes, PSA-ACT es el 85% del PSA total. Entre el 12 y el 15% de los pacientes con cáncer prostático, por otro lado, tiene al PSA Libre como forma predominante[2].

Estudios bioquímicos del PSA aislado a partir de plasma seminal demuestran que aproximadamente el 35% del PSA está en forma libre, siendo enzimáticamente inactivo y sin reaccionar con los inhibidores de proteasas[3]. De acuerdo con las hipótesis actuales, esta forma de la molécula representa o bien un cimógeno inactivo del PSA o una forma enzimáticamente inactiva o incompleta.

La formación de complejos con ACT tiene como resultado la exposición de un número limitado de epitopes antigénicos de PSA, mientras que el complejo con AMG encapsula todos los epitopes antigénicos del PSA. Las diferencias en el reconocimiento de estas múltiples formas de PSA por los anticuerpos de los reactivos contribuyen a las discrepancias entre los diferentes ensayos comerciales de PSA[4].

Los ensayos inmunométricos han sido, en la actualidad, diseñados para caracterizar selectivamente todas las formas moleculares de PSA circulante: algunos detectan sólo PSA-ACT, otras sólo PSA Libre, y algunos se consideran PSA total ya que detectan epitopes de PSA disponibles tanto en el PSA Libre como en el PSA unido a ACT.

Utilizando ensayos como este, se observó que pacientes con carcinoma prostático (PCa) no tratado tenían una concentración significativamente más pequeña ($p < 0,0001$) de la fracción de PSA total que los pacientes con hiperplasia benigna de próstata (BPH)[2].

Una cantidad sustancial de la bibliografía indica el beneficio de combinar el PSA libre y total en forma de ratio, puesto que facilita la discriminación entre carcinoma prostático e hiperplasia benigna de próstata. Estas determinaciones deben realizarse con ensayos desarrollados por el mismo fabricante[14,15]. El ratio libre / total (% PSA libre) típicamente se expresa como porcentaje: $100 \times$ PSA libre / PSA total, con ambas mediciones en ng/ml. El % de PSA libre es, de promedio, más bajo en carcinoma prostático que en BPH y se ha usado comúnmente como ayuda en la diagnosis de carcinoma prostático cuando la concentración de PSA total se encuentra en la ‘zona gris’, es decir, entre

4 y 10 ng/ml[16–19]. Mientras utilizar un punto de corte más bajo supondría obtener menos resultados falsos positivos, un punto de corte mayor conlleva una menor probabilidad de no detectar casos reales de carcinoma prostático. El % PSA libre también ha sido investigado a lo largo del amplio rango de concentración del PSA total de 2,0 a 20 ng/ml[15,17,18,20].

El % óptimo del punto de corte de PSA libre depende también de otros factores, uno de ellos es la volumen de la próstata y/o de la zona de transición medida mediante ecografía de ultrasonido transrectal (TRUS) [21,22]. La edad es otro factor: mientras PSA libre y total aumentan con la edad, el % de PSA libre disminuye[23]. Aproximaciones más comlejas utilizando redes neurales artificiales (ANNs) tienen en cuenta estos y otros parámetros, por ejemplo, los resultados de un tacto rectal (DRE). Utilizando una ANN se puede mejorar significativamente la discriminación entre BPH y carcinoma prostático[24].

Principio del análisis

IMMULITE 2000 PSA Libre es un ensayo inmunométrico quimiolumiscente secuencial en fase sólida.

La fase sólida (bola) está recubierta con un anticuerpo monoclonal de ratón frete a PSA específico para PSA libre (no complejado). La muestra del paciente es incubada con la bola durante el primer ciclo en el cual el PSA libre presente en la muestra se une al anticuerpo monoclonal específico frente a PSA libre que recubre la bola. El suero no unido es eliminado mediante lavado y centrifugación. El anticuerpo policlonal de cabra anti-PSA conjugado con fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) del reactivo es añadido en el segundo ciclo y se une al PSA libre de la bola para formar un complejo de anticuerpos tipo sandwich. El conjugado enzimático no unido es entonces eliminado mediante lavado y centrifugación. Finalmente, es añadido el sustrato quimioluminiscente a la bola y la señal es generada de manera proporcional a la cantidad de enzima unida.

Ciclos de incubación: 2 × 30 minutos
Tiempo hasta el primer resultado: 65 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 centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El PSA Libre 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 de Muestra: 25 µl de suero

Conservación: 2–8°C durante 24 horas o para almacenar por períodos más prolongados a –20°C[29,30].

Advertencias y Precauciones

Sólo para uso diagnóstico *in vitro*.



¡PRECAUCIÓN! RIESGO BIOLÓGICO POTENCIAL
Contiene material de origen humano. Cada donación de sangre humana o componente sanguíneo ha sido probada por métodos aprobados por la FDA con el fin de detectar la presencia de anticuerpos de los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2), así como el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y el anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (VHC). Los resultados de estas pruebas fueron negativos (no repetidamente reactivos). Ninguna prueba ofrece total garantía de que en las muestras no haya estos agentes infecciosos u otros; por tanto, este material se deberá manipular conforme a las prácticas recomendables de laboratorio y las precauciones universales[26-28].

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.



H302 + H312, H412

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

¡Advertencia! Nocivo en caso de ingestión o en contacto con la piel. Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. Llevar guantes/prendas/ gafas/máscara de protección. Evitar su liberación al medio ambiente. EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico en caso de malestar. EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Llamar a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico en caso de malestar. Eliminar el contenido y el recipiente de acuerdo con las normativas locales, regionales y nacionales.
Contiene: azida de sodio; Ajustadores de PSA Libre

Reactivos: Mantener a 2–8°C. Desechar de acuerdo con las normas aplicables.

Seguir las precauciones universales y manipular 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 sódica, en concentraciones menores de 0,1 g/dl, como conservante. Para su eliminación, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitución de residuos de azidas metálicas, potencialmente explosivas, en las cañerías de cobre y plomo.

Substrato quimioluminiscente: Evitar la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

Agua: Usar agua destilada o desionizada.

Materiales Suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

Cartucho de bolas de PSA Libre (L2PF12)
Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpo monoclonal de ratón anti-PSA específico para PSA libre (no acomplejada). Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KPF2: 1 cartucho

Vial de Reactivo de PSA Libre (L2PFA2)
Con códigos de barras. 11,5 ml de una solución tampón de proteína en una matriz, con conservante. 11,5 ml de fosfatasa alcalina (intestino de ternera) conjugada con un anticuerpo policlonal de cabra anti-PSA específico para PSA, en una solución tampón con suero humano y conservante. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KPF2: 1 vial

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 PSA Libre (LPFL, LPFH)
Dos viales (bajo y alto) liofilizados de PSA Libre en una solución tampón, 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 (alicuotados) a –20°C.
L2KPF2: 1 juego

Antes de hacer un ajuste, colocar las etiquetas a las alícuotas apropiadas (suministradas con el kit) sobre tubos de ensayo, de forma tal que los códigos de barras puedan ser leídos por el lector.

Componentes del kit que se suministran por separado

Multidiluyente 2 (L2M2Z L2M2Z4)
Para la dilución en el equipo de las muestras de pacientes. Un vial de un concentrado listo para su uso de una matriz proteica no humana con conservantes. Conservación: 30 días (después de su apertura) a 2–8°C o 6 meses (alicuotado) a –20°C.
L2M2Z: 25 ml **L2M2Z4:** 55 ml

Se suministran etiquetas con códigos de barras para usarse con este diluyente. Antes de uso, colocar la etiqueta con el código de barras en un tubo de ensayo de 16 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2M2Z: 3 etiquetas
L2M2Z4: 5 etiquetas

L2SUBM: Substrato quimioluminiscente
L2PWSM: Lavado de sonda
L2KPM: Kit de limpieza de sonda
LRXT: Tubos de reacción (desechables)
L2ZT: 250 Tubos del Diluyente de la Muestra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tapones del Tubo del Diluyente de la muestra

También necesarios
Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles

Ensayo

Aviso: para obtener un funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:
2 semanas

Muestras de Control de calidad: Seguir las reglamentaciones gubernamentales o los requisitos de acreditación para conocer la frecuencia de control de calidad.

Use controles o pools de muestrasro con dos niveles diferentes, como mínimo, de PSA libre (bajo y alto).

Siemens Healthcare Diagnostics recomienda el uso de materiales de control de calidad comercializados con al menos 2 niveles (bajo y alto). Un nivel de funcionamiento satisfactorio se consigue cuando los valores obtenidos del analito están dentro del rango de control aceptable para el sistema, o dentro del rango establecido determinado por un programa adecuado de control de calidad interno de laboratorio.

Valores esperados

Basados en su relación, IMMULITE PSA Libre (vea Método de Comparación), se espera que el ensayo tenga en términos generales los mismos intervalos de referencia.

Se realizó un estudio del intervalo de referencia para el ensayo IMMULITE PSA Libre usando muestras de suero de voluntarios adultos, incluyendo a hombres de aproximadamente 20 a 70 años de edad (95% central: 22–64 años, mediana: 40 años). Basado en un cuestionario, los sujetos se encontraban en aparente buena salud.

Se recogieron muestras de sangre en Francia, Alemania, Holanda y Portugal. Los resultados fueron generados por un laboratorio independiente en Holanda usando los kits IMMULITE. (Las muestras se recolectaron en tubos de vidrio sin anticoagulantes, barreras de gel o promotores de la coagulación, y se analizaron en singlicato.)

Las medianas y los 95º percentiles se tabulan a continuación. Los percentiles se determinaron en forma no paramétrica.

Grupo	Mediana	Percentil 95%	Unidades	*n*
Hombres	0,14	0,42	ng/ml	425

Estos límites han de considerarse sólo como una *guía*. Cada laboratorio deberá establecer sus propios intervalos de referencia.

Limitaciones

Las concentraciones de PSA en suero no deberán interpretarse como una prueba absoluta de la presencia o ausencia de una enfermedad maligna[9].

La predicción de la repetición de una enfermedad maligna deberá basarse en una completa evaluación clínica del paciente, que también puede incluir determinaciones seriadas de PSA en suero.

Las muestras deberán obtenerse antes de una biopsia, prostatectomía o masaje prostático[10].

La expresión de PSA puede verse alterada por el tratamiento hormonal para el cáncer de próstata. Consecuentemente, la obtención de un resultado bajo de PSA, después de un tratamiento para cáncer prostático que incluye una terapia hormonal, puede no reflejar correctamente la presencia de una enfermedad residual o recurrente[13].

La precisión de los ensayos de PSA libre no puede evaluarse determinando la recuperación de PSA libre añadida a muestras de suero, debido a que la formación de complejos entre la PSA libre y las proteínas que se unen a PSA, que están presentes en el suero normal (α_1-antiquimiotripsina y α_2-macroglobulina), generalmente causarán recuperaciones erróneamente bajas.

Algunas personas tienen anticuerpos contra proteínas de ratón que puede interferir en los inmunoensayos que emplean anticuerpos derivados de ratones. En particular, las muestras de los pacientes que han recibido preparaciones de anticuerpos monoclonales de ratón para el diagnóstico o tratamiento, pueden contener anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA). Estas muestras pueden mostrar resultados erróneos en dichos ensayos[6-8]. Por ello, los resultados obtenidos con IMMULITE 2000 PSA Libre sólo deberán usarse en conjunto con los resultados de otros procedimientos de diagnóstico y con la información disponible de la evaluación clínica del paciente.

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.)

Rango informable: 0,07–25 ng/ml (WHO NIBSC 1st IS 96/668)

Sensibilidad analítica: Límite de blanco (valor esperado más alto para una muestra sin analito; calculado como el valor que se encuentra dos desviaciones estándar por encima del valor de calibración más bajo): 0,02 ng/ml

Límite de Detección (concentración mínima detectable; determinado de acuerdo con el documento CLSI EP17-A[25]): 0,07 ng/ml

Sensibilidad Funcional: (concentración con un coeficiente de variación (CV) del 20%, determinada de acuerdo con el documento CLSI EP17-A[25]): 0,07 ng/ml

Efecto de gancho a altas dosis: Ninguno hasta 15 118 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.)

Especificidad: IMMULITE 2000 PSA Libre son muy específicos para PSA Libre, con muy baja reactividad cruzada con otras substancias naturales que puedan estar presentes en las muestras de los pacientes. (Véase la tabla "Specificity".)

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina, en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Biotina: Las muestras que contienen biotina en una concentración de 3500 ng/ml han demostrado un cambio igual o inferior al 10% en los resultados.

Hemolisis: La presencia de eritrocitos hasta concentraciones de 30 µl/ml no tiene efecto en los resultados, en lo concerniente a la precisión del ensayo.

Lipemia: La presencia de triglicéridos en concentraciones hasta 3000 mg/dl no tiene efecto alguno en los resultados, en lo correspondiente a la precisión del ensayo.

Tipo de Muestra Alternativa: para evaluar el efecto de los diferentes tipos de muestras alternativos, se recogió sangre de 15 voluntarios en tubos normales, tubos con Heparina, tubos con EDTA y tubos vacutainer SST de Becton Dickinson. Todas las muestras se analizaron mediante el procedimiento PSA Libre IMMULITE 2000. Por regresión lineal:

(Heparina) = 1,04 (Suero) – 0,19 ng/ml
r = 0,997

(EDTA) = 1,03 (Suero) – 0,19 ng/ml
r = 0,998

(SST) = 1,08 (tubos simples) – 0,28 ng/ml
r = 0,99

Medias:
37 ng/ml (Heparina)
37 ng/ml (EDTA)
38 ng/ml (SST)
36 ng/ml (Suero)

Comparación de los métodos: El ensayo se ha comparado con el IMMULITE PSA Libre en 184 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración**:** aproximadamente 0,07 a 25 ng/ml. Véase el gráfico.) Por regresión lineal:

(IML 2000) = 1,04 (IML) – 0,08 ng/ml
r = 0,998

Medias:
2,37 ng/ml (IMMULITE 2000)
2,35 ng/ml (IMMULITE)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de
Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd.
está certificado por la ISO 13485.

Français

PSA libre

Domaine d'utilisation : dosage quantitatif de la fraction libre, non complexée de l'antigène spécifique prostatique (PSA), c'est à dire de la fraction du PSA non lié à l'α_1-antichymotrypsine ou à d'autres protéines du sérum. Ce test est réservé à un usage diagnostique *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000.

Référence catalogue : **L2KPF2** (200 tests)

Code produit : **fPS**
Code couleur : **gris clair**

Ce réactif est enregistré auprès de l'AFSSAPS.

Pour un échantillon donné, la concentration d'antigène PSA mesuré avec les dosages provenant de différents fabricants peut varier en fonction des méthodes utilisées et de la spécificité des réactifs. Les résultats transmis par le laboratoire au médecin doivent impérativement mentionner la méthode de dosage utilisée. Les valeurs obtenues avec différentes méthodes de dosage de PSA ne sont pas interchangeables. Avant de changer de technique, le laboratoire doit impérativement confirmer les valeurs obtenues avec la technique précédente pour les patients suivis régulièrement.

Introduction

Depuis l'introduction des dosages de l'antigène spécifique prostatique (PSA) en immunoanalyse, il a été rapporté que différentes formes immunoréactives pouvaient être isolées du sérum de patients atteints d'un cancer de la prostate par des méthodes de chromatographie.[1] Le PSA forme en effet des complexes stables avec deux des principaux inhibiteurs des protéases du sang : l'α_1-antichymotrypsine (ACT) et l'α_2-macroglobuline (AMG).[4] Dans le cancer de la prostate le PSA fixé à l'ACT (PSA-ACT) est en général la principale forme circulatoire : pour environ 50 % de ces patients, la forme PSA-ACT représente 85 % du PSA total présent. Pour environ 12 à 15 % de patients atteints de ce type de cancer, à l'inverse, la forme libre est la forme de PSA prédominante.[2]

Des études biochimiques menées à partir de plasma séminal montrent qu'environ 35 % du PSA est sous forme libre, enzymatiquement inactif et ne réagissant pas avec les inhibiteurs des protéases.[3] En accord avec les hypothèses actuelles, cette forme de la molécule représente soit une proenzyme inactive du PSA ou une forme enzymatiquement inactive.

La formation du complexe PSA-ACT laisse un nombre limité de sites antigéniques du PSA accessibles aux anticorps, ce n'est pas le cas dans le complexe PSA-AMG où l'ensemble des sites antigéniques est inaccessible. Les différentes formes de PSA n'étant pas non plus reconnues de manière identique par toutes les méthodes de dosage actuelles, ceci explique la variabilité des résultats.[4]

Les dosages immunométriques sont aujourd'hui conçus pour caractériser sélectivement toutes les formes circulatoires du PSA ; les uns détectent seulement le PSA lié à l'α_1-antichymotrypsine, les autres juste le PSA libre et enfin certains le PSA total, (c'est-à-dire les épitopes disponibles à la fois sur les molécules de PSA libre et sur celles de PSA complexées aux inhibiteurs des protéases).

L'utilisation de dosages tels que ceux-ci a démontré que le PSA libre représente une fraction significativement ($p < 0,0001$) plus faible de la concentration de PSA total chez les patients atteints d'un cancer de la prostate et non traité que chez les patients avec une hypertrophie bénigne prostatique (HBP).[2]

Des données substantielles de la littérature indiquent le bénéfice de combiner le PSA libre et le PSA total sous forme de ratio, facilitant ainsi la différenciation entre un cancer de la prostate et une HBP. Ces déterminations doivent être réalisées en utilisant les dosages développés par le même fabricant.[14,15] Ce ratio PSA libre sur total (% PSA libre) est exprimé en pourcentage: 100 $\times$ PSA libre / PSA total, chaque composant étant mesuré en ng/ml. Le pourcentage de PSA libre est, en moyenne, plus bas dans les cas de cancer de la prostate que lors d'une HBP et a été communément utilisé comme une aide au diagnostic du cancer de la prostate lorsque la concentration en PSA total est dans la "zone grise", c'est à dire entre 4 et 10 ng/ml.[16-19] Alors qu'un seuil plus bas pourrait conduire à moins de résultats faussement positifs, avec un seuil plus élevé il est moins probable de ne pas détecter un réel cas de cancer de la prostate. Le pourcentage de PSA libre a également été étudié sur un plus large domaine de concentration du PSA de 2 à 20 ng/ml.[15,17,18,20]

Le seuil optimal pour le pourcentage de PSA libre dépend également d'autres facteurs, l'un d'entre eux est la mesure du volume total de la prostate et/ou du volume de la zone de transition par échographie transrectale (TRUS).[21,22]

L’âge est un autre de ces facteurs: alors que le PSA libre et le PSA total augmentent avec l’âge, le pourcentage de PSA libre diminue.[23] Des approches plus complexes utilisant les Réseaux Neuronaux Artificiels (ANNs) prennent ces paramètres ainsi que d’autres en compte, comme par exemple, les résultats du toucher rectal (TR). L’utilisation du Réseau Neuronal Artificiel (ANNs) peut améliorer de manière significative la différenciation entre une HBP et un cancer de la prostate.[24]

Principe Du Test

Le test IMMULITE 2000 PSA libre est un dosage immunométrique séquentiel chimiluminescent en phase solide.

La phase solide (bille) est revêtue d’anticorps monoclonaux murins anti-PSA, spécifiques du PSA libre (non complexé). L’échantillon du patient est incubé avec la bille lors du premier cycle au cours duquel le PSA libre contenu dans l’échantillon se lie à la bille revêtue d’anticorps monoclonaux de chèvre spécifiques du PSA libre. Le sérum non lié est alors éliminé par lavage avec centrifugation axiale. Le réactif contenant des anticorps polyclonaux de chèvre anti-PSA conjugués à la phosphatase alcaline (intestins de veau) est introduit lors du second cycle et se lie au PSA libre de la bille pour former un complexe anticorps-sandwich. Le conjugué enzymatique non lié est ensuite éliminé par lavage avec centrifugation axiale. Enfin, le substrat chimiluminescent est ajouté à la bille et le signal généré est proportionnel à l’enzyme liée.

Cycles d'incubation : 2 × 30 minutes
Temps de rendu du premier résultat : 65 minutes

Recueil des echantillons

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 dûs 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 PSA 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: 25 µl de sérum

Conservation : Stable à 2–8°C pendant 24 heures ou pour une conservation prolongée à –20°C.[29,30]

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.



AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL
Contient du matériel d’origine humaine. Chaque don de sang ou de composant sanguin humain a été testé selon des méthodes homologuées par la FDA afin de détecter la présence d’anticorps anti-virus de l’immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2), ainsi que la présence d’antigène de surface de l’hépatite B (HBsAg) et d’anticorps anti-virus de l’hépatite C (VHC). Les résultats de ces tests se sont révélés négatifs (ou positifs mais de façon non répétable). Aucun test ne peut garantir totalement l’absence d’agents infectieux tels que ceux-ci ou d’autres. Par conséquent, ce matériel doit être manipulé conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux précautions universelles.[26-28]

ATTENTION : Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.

 **H302 + H312, H412** **P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501**	**Avertissement !** Nocif en cas d'ingestion ou de contact cutané. Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. Éviter le rejet dans l'environnement. EN CAS D'INGESTION: Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. Éliminer les contenus et les contenants conformément à toutes les réglementations locales, régionales et nationales. **Contient :** azide de sodium ; Ajusteurs PSA libre

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 les contaminations et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

Eau : utiliser uniquement de l'eau distillée ou désionisée.

Materiel 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 PSA libre (L2PF12)
Avec code-barres. 200 billes revêtues d'un anticorps monoclonal murin anti-PSA spécifique du PSA libre (non lié). Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KPF2 : 1 cartouche

Cartouche à réactif PSA libre (L2PFA2)
Avec code-barres. 11,5 ml d'une matrice tampon/sérum avec un conservateur; 11,5 ml de phosphatase alcaline (intestins de veaux) conjuguée à un anticorps polyclonal de chèvre anti-PSA spécifique du PSA, dans un tampon contenant du sérum humain, avec un conservateur. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KPF2: 1 cartouche

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 PSA libre (LPFL, LPFH)
2 flacons (« haut » et « bas ») de PSA libre lyophilisé dans un tampon avec conservateur. Reconstituer chaque flacon avec **3,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Mélanger en imprimant un léger mouvement circulaire ou en retournant délicatement jusqu'à complète dissolution de la substance lyophilisée. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après reconstitution, ou 6 mois (aliquoté) à –20 °C.
L2KPF2: 1 jeu

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

Composants du coffret fournis séparément

Multi-diluant 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Pour la dilution à bord des échantillons de patients. Un flacon contenant une matrice concentrée (prête à l'emploi) de tampon / protéines non-humaines avec conservateur. Stockage: 30 jours (après ouverture) à 2–8°C ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2M2Z : 25 ml **L2M2Z4 :** 55 ml

Les étiquttes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 × 100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2M2Z : 3 étiquettes
L2M2Z4 : 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 × 100 mm)
L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

Egalement requis
Eau distillée ou désionisée ; tubes; contrôles

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel de l’opérateur des systèmes IMMULITE 2000.

Voir le Manuel de l’opérateur des systèmes IMMULITE 2000 pour : la préparation, le démarrage du système, la dilution, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé : 2 semaines

Echantillons pour le contrôle de qualité : Suivre les réglementations gouvernementales et les exigences relatives aux accréditations en matière de fréquence de contrôle qualité.

Utiliser des Contrôle ou des pools de Echantillons avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) de PSA libre.

Siemens Healthcare Diagnostics recommande d’utiliser des échantillons de contrôle de qualité en vente dans le commerce et comprenant au moins 2 niveaux (bas et haut). Un niveau de performance satisfaisant est atteint lorsque les valeurs d'analyte obtenues se situent dans l'intervalle de contrôle acceptable du système ou dans un intervalle déterminé par un schéma de contrôle de qualité approprié interne au laboratoire.

Valeurs de référence

Compte tenu de sa corrélation avec le test IMMULITE PSA Libre (voir « Comparaison de méthodes »), on peut attendre de ce test qu'il ait les mêmes valeurs de référence.

Un étude sur les valeurs de référence a été faite pour l'IMMULITE PSA libre en utilisant des échantillons sériques provenant d'hommes adultes volontaires, âgés de 20 à 70 ans (domaine à 95 % : 22–64 ans, médiane 40 ans). Les sujets étaient considérés comme en bonne santé sur la base d'un questionnaire.

Les échantillons sanguins ont été recueillis en France, Allemagne, Pays-Bas et Portugal. Les dosages ont été faits dans un laboratoire indépendant aux Pays-Bas en utilisant les tests IMMULITE. (Les échantillons ont été recueillis sur des tubes secs en verre, sans anticoagulant, ni gel, ni substance activant la coagulation, et ont été testés en simple.)

Le tableau ci-dessous mentionne les médiane et 95ème percentile. Les percentiles ont été déterminés de manière non-paramétrique.

Groupe	Médiane	95ème percentile	Unités	*n*
Hommes	0,14	0,42	ng/ml	425

Utiliser ces valeurs *à titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devra établir ses propres valeurs de référence.

Limites

Les concentrations de PSA sériques ne doivent pas être utilisées pour affirmer la présence ou l'absence de cancer.[9]

Le diagnostic d'une récidive d'un cancer de la prostate doit être effectué à partir d'une analyse clinique complète du patient, plusieurs dosages du PSA en faisant partie.

Les échantillons de patients doivent être obtenus avant toute biopsie, prostatectomie ou examen rectal.[10]

L'expression du PSA peut être modifiée par un traitement hormonal du cancer de la prostate. Par conséquent, une faible concentration de PSA obtenue après un traitement hormonal ne signifie pas obligatoirement la présence de cellules cancéreuses résiduelles ou d'une récidive.[13]

La précision du test PSA libre ne peut être déterminée en chargeant en PSA libre des échantillons sériques car la formation de complexes entre le PSA libre et les protéines porteuses du PSA présentes dans un sérum normal (α_1-antichymotrypsine et α_2-macroglobuline) amèneront en général à un faible taux de récupération.

Certains individus possèdent des anticorps dirigés contre des protéines murines qui sont susceptibles d'interférer avec les immunodosages qui utilisent des anticorps d'origine murine. Les échantillons provenant de patients à qui l'on a administré des préparations d'anticorps monoclonaux de souris dans un but diagnostique ou thérapeutique, en particulier, sont susceptibles de renfermer des anticorps humains anti-souris (HAMA). Ces échantillons peuvent donner des résultats erronés avec les dosages précédemment décrits.[6-8] Dans ce cas, les résultats du test Immulite 2000 PSA libre doivent être utilisés conjointement avec les résultats d'autres méthodes diagnostiques et interprétés avec les informations cliniques concernant le patient.

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 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 activateur de la coagulation.)

Domaine de mesure : 0,07–25 ng/ml (WHO NIBSC 1st IS 96/668)

Sensibilité analytique : Limite du blanc (valeur attendue la plus élevée pour un échantillon sans analyte ; calculée pour être la valeur située deux écarts types au-dessus de celui de la calibration la plus basse) : 0,02 ng/ml

Limite de détection (correspond à la plus basse concentration détectable, établie conformément au protocole CLSI EP17-A[25]) : 0,07 ng/ml

Sensibilité fonctionnelle : (concentration ayant un coefficient de variation (CV) de 20 %, établie conformément au protocole CLSI EP17-A[25]) : 0,07 ng/ml

Effet-Crochet aux doses élevées : aucune jusqu'à 15 118 ng/ml

Précision : les échantillons ont été dosés en duplicata sur une période de 20 jours, avec deux séries par jours, soit 40 séries et 80 valeurs au total. (Voir le tableau « Precision ».)

Test de dilution : les échantillons ont été dosés à différentes concentrations. (Voir le tableau « Linearity » pour des données représentatives.)

Spécificité : Les anticorps utilisés dans la trousse IMMULITE 2000 PSA libre sont hautement spécifiques de l'antigène spécifique à la prostate et présentent une très faible réactivité croisée avec d'autres composants qui pourraient être naturellement présents dans l'échantillon du patient. (Voir le tableau « Specificity ».)

Bilirubine : La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

Biotine : Les échantillons contenant de la biotine à une concentration de 3500 ng/ml présentent un changement de résultats inférieur ou égal à 10 %.

Hémolyse : La présence d'agrégat d'hématies jusqu'à une concentration de 30 µl/ml, n'a aucun effet sur les résultats quant à la précision du dosage.

Lipémie : La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 3000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

Autres types d'échantillons : pour estimer l'effet de l'utilisation de différents type d'échantillons, 15 volontaires ont été prélevés sur tubes secs, héparinés, EDTA et sur tubes vacutainer SST Becton Dickinson. Tous les échantillons ont été dosés avec le protocole l'IMMULITE 2000 PSA Libre. Par régression linéaire:

(Hépariné) = 1,04 (Sérum) – 0,19 ng/ml
r = 0,997

(EDTA) = 1,03 (Sérum) – 0,19 ng/ml
r = 0,998

(SST) = 1,08 (tubes ordinaires) – 0,28 ng/ml
r = 0,99

Moyennes :
37 ng/ml (Hépariné)
37 ng/ml (EDTA)
38 ng/ml (SST)
36 ng/ml (Sérum)

Comparaison de méthodes : le test a été comparé au test IMMULITE PSA Libre sur 184 échantillons. (Intervalle de concentrations : 0,07 à 25 ng/ml environ. Voir graphique.) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 1,04 (IML) – 0,08 ng/ml
r = 0,998

Moyennes :
2,37 ng/ml (IMMULITE 2000)
2,35 ng/ml (IMMULITE)

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

Le Système Qualité de
Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd.
est certifié ISO 13485.

Italiano

PSA Libero

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa nel siero dell'antigene prostatico specifico libero non-complessato (PSA), p.e. il PSA non legato all'α_1-antichimotripsina o ad altre proteine leganti.

Codice: **L2KPF2** (200 test)

Codice del Test: **fPS**
Colore: **grigio chiaro**

La concentrazione di PSA libero in un dato campione determinata con dosaggi di produttori diversi può variare a causa delle differenze nei dosaggi e nella specificità del reagente. I risultati comunicati dal laboratorio al medico devono includere le caratteristiche del dosaggio utilizzato. I valori ottenuti con dosaggi diversi di PSA libero non possono essere interscambiati. Prima di cambiare da un dosaggio all'altro, il laboratorio deve confermare i valori di base per i pazienti monitorati serialmente.

Riassunto e Spiegazione del Test

Dall'avvio delle misurazioni dell'antigene prostatico specifico (PSA) attraverso immunodosaggi, è stato rilevato che possono essere isolate dal siero di pazienti con cancro della prostata (PCa) diverse specie immunoreattive a seguito di cromatografia a setaccio.[1] E' stato dimostrato che il PSA forma complessi stabili nel sangue con due dei maggiori inibitori della proteasi extracellulare, l'α_1-antichimotripsina (ACT) e l'α_2-macroglobulina (AMG).[4] In pazienti affetti da cancro della prostata, il PSA

complessato con l'ACT (PSA-ACT) è tipicamente la forma prevalente in circolo: per circa il 50% di questi pazienti, il PSA-ACT costituisce circa l'85% del PSA totale presente. Circa il 12–15% dei pazienti affetti da cancro della prostata, d'altra parte, presenta il PSA libero (non complessato) quale forma predominante.[2]

Studi biochimici del PSA isolato da plasma seminale mostrano che circa il 35% del PSA è libero, enzimaticamente inattivo e non reattivo con gli inibitori della proteasi.[3] Secondo le ipotesi correnti, questa forma della molecola rappresenta sia uno zimogeno inattivo del PSA che una forma nascosta o enzimaticamente inattiva.

La formazione del complesso con l'ACT comporta l'esposizione di un numero limitato degli epitopi dell'antigene del PSA, mentre la formazione del complesso con AMG incapsula gli epitopi antigenici del PSA. Le differenze nell'identificazione di queste forme multiple di PSA attraverso reagenti anticorpi ha contribuito alle discrepanze tra i dosaggi di PSA presenti in commercio.[4]

I dosaggi immunometrici sono stati concepiti per caratterizzare tutte le forme molecolari di PSA in circolo: alcune individuano solo il PSA-ACT, altre solo il PSA libero, e altre ancora sono considerate dosaggi per il PSA totale, riuscendo ad individuare e legare gli epitopi del PSA sia nella forma libera (non complessata) che nella forma complessata.

Usando tali dosaggi del genere, si è rilevato che il PSA libero comprende una porzione significativamente più piccola ($p < 0,0001$) della concentrazione di PSA totale nei pazienti con un PCa non trattato rispetto a pazienti con un'ipertrofia prostatica benigna (BPH).[2]

Gran parte della letteratura indica i benefici derivanti dalla combinazione di PSA libero e totale sotto forma di un rapporto, che facilita la discriminazione tra il PCa e il BPH. Queste determinazioni si possono realizzare attraverso dosaggi elaborati dallo stesso produttore.[14,15]
Il rapporto libero- totale (%PSA libero) è tipicamente espresso in percentuale: $100 \times$ PSA libero / PSA totale, entrambi misurati in ng/mL. Il PSA libero % è, nella media, più basso nel PCa che nel BPH e solitamente viene usato quale ausilio nella diagnosi del PCa quando la concentrazione di PSA totale rientra nella "zona grigia," cioè, tra 4 e 10 ng/mL.[16–19] Se un cutoff inferiore può dar vita a risultati falsamente positivi, è più difficile che un cutoff superiore perda campioni veri di PCa. Il PSA libero % è stato analizzato anche nel più ampio range di concentrazione di PSA totale di 2,0 a 20 ng/mL.[15,17,18,20]

Il cutoff ottimale di PSA libero % dipende anche da altri fattori, uno dei quali è la prostata e/o il volume della zona di transizione misurato attraverso l'ultrasuono transrettale (TRUS).[21,22] Un altro fattore è l'età: se con l'avanzare degli anni aumentano sia il PSA libero che quello totale, il PSA libero % diminuisce.[23] Approcci più complessi che impiegano sistemi neuronali artificiali (ANNs) prendono in considerazione questi e altri fattori, ad esempio, i risultati di un esame rettale digitale (DRE). L'uso di un ANN può aumentare significativamente la discriminazione tra BPH e PCa.[24]

Principio della Procedura

Il dosaggio IMMULITE 2000 PSA Libero è un dosaggio immunometrico sequenziale in chemiluminescenza, in fase solida.

La fase solida (sferetta) è coattata con un anticorpo monoclonale murino anti-PSA antibody specifico per il PSA libero (senza complesso). Il campione viene incubato con la sferetta durante il primo ciclo, quando il PSA libero nel campione si lega alla sferetta coattata con anticorpo monoclonale PSA libero specifico. Il siero non legato è quindi rimosso attraverso un lavaggio a centrifuga. La fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata a un anticorpo policlonale di capra anti-PSA nel reagente viene introdotta nel secondo ciclo e si lega al PSA libero sulla sferetta per formare un complesso. Il coniugato enzimatico non legato è quindi rimosso attraverso un lavaggio a centrifuga. Infine, il substrato chemiluminescente viene aggiunto alla sferetta e viene prodotto un segnale in proporzione all'enzima legato.

Cicli d'incubazione: 2 × 30 minuti
Tempo al Primo Risultato: 65 minuti

Prelievo del Campione

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

I campioni emolizzati posson 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 PSA Libero non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume richiesto: 25 µL di siero

Conservazione: Stabile a 2–8°C per 24 ore o per una conservazione prolungata a –20°C.[29,30]

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro* soltanto.



ATTENZIONE! POTENZIALE PERICOLO BIOLOGICO
Contiene materiale di origine umana. Ciascuna donazione di sangue o componenti ematici umani è stata testata con metodi approvati dalla FDA per rilevare la presenza di anticorpi al virus dell'immunodeficienza umana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2), nonché per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e gli anticorpi al virus dell'epatite C (HCV). I risultati del test sono stati negativi (non ripetutamente reattivi). Nessun test offre assicurazione completa che questi o altri agenti infettivi siano assenti; questo materiale va trattato utilizzando le corrette prassi di laboratorio e le precauzioni universali.[26-28]

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale portatore e trasmettitore di agenti patogeni.



H302 + H312, H412

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

Avvertenza! Nocivo se ingerito o a contatto con la pelle. Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. Indossare guanti/ indumenti protettivi/ Proteggere gli occhi/il viso. Non disperdere nell'ambiente. IN CASO DI INGESTIONE: In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. Smaltire il prodotto e il contenitore in conformità con tutte le disposizioni locali, regionali e nazionali.
Contiene: sodio azide; Calibratori PSA Libero

Reagenti: Conservare i reagenti a 2–8°C. Eliminare in conformità alle leggi vigenti.

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati dal sangue umano sono stati testati con esito negativo per la sifilide, gli anticorpi anti-HIV 1 e 2, l'Antigene di Superficie dell'Epatite B e 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 unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

Contenitore di Biglie PSA Libero (L2PF12)
Con codice a barre. 200 biglie coattate con un anticorpo monoclonale murino anti-PSA specifico per il PSA libero (non complessato). Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KPF2: 1 confezione

Porta Reagente PSA Libero (L2PFA2)
Con codice a barre. 11,5 mL di una matrice/tampone proteica, con conservanti; 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con un anticorpo policlonale di capra anti-PSA specifico per il PSA in un tampone contenente siero umano, con conservanti. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KPF2: 1 Porta Reagente

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.

Calibratori PSA Libero (LPFL, LPFH)
Due flaconi (Basso ed Alto), ciascuno con PSA libero liofilo in una soluzione/tampone, con conservanti. Ricostituire ogni flacone con **3,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Mescolare agitando delicatamente o capovolgendo la miscela finchè 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.
L2KPF2: 1 set

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste sulle provette delle aliquote (fornite col kit) cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore.

Componenti del kit forniti Separatamente

Multidiluente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Per la diluizione interna di campioni prelevati da pazienti. Un flacone di tampone proteico non umano concentrato (pronto all'uso) con conservante. Conservazione: 30 giorni (dopo l'apertura) a 2–8°C oppure 6 mesi (in aliquote) a –20°C
L2M2Z: 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

Vengono Fornite Le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm cosicchè i codici a barre possano essere letti dal lettore interno
L2M2Z: 3 etichette **L2M2Z4:** 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 × 100 mm) per Diluente del Campione
L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluente del Campione

Materiali richiesti
Acqua distillata o deionizzata; provette di vetro; controlli

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell’Operatore dei Sistemi 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:
Per la frequenza del controllo di qualità seguire le normative in vigore o i requisiti di accreditamento.

Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (Alto e Basso) di PSA Libero.

Siemens Healthcare Diagnostics consiglia l’utilizzo di materiali di controllo della qualità disponibili in commercio con almeno 2 livelli (bassi e alti). Un livello soddisfacente di prestazioni si raggiunge quando i valori dell’analita ottenuti rientrano nei range di accettabilità del Controllo per il sistema o nei range stabiliti all’interno del laboratorio attraverso un programma appropriato di valutazione del controllo di qualità.

I valori attesi

In base al suo rapporto con il dosaggio IMMULITE PSA Libero (vedi Comparazione di Metodi), si può prevedere che il dosaggio abbia essenzialmente gli stessi range di riferimento.

E' stato effettuato uno studio sul range di riferimento IMMULITE PSA Libero utilizzando campioni di siero provenienti da volontari adulti, inclusi uomini dai 20 ai 70 anni di età (valore centrale 95%: 22–64 anni, valore mediano: 40 anni). I pazienti erano in apparente buono stato di salute, sulla base di un questionario.

I campioni di sangue sono stati prelevati in Francia, Germania, Olanda e Portogallo. I risultati sono stati generati da un laboratorio indipendente in Olanda utilizzando i kit IMMULITE. (I campioni sono stati raccolti in provette semplici di vetro senza anticoagulanti, barriere di gel, o additivi che favoriscano la formazione di coaguli e dosati in singolo).

Le mediane ed il 95mo percentile sono stati di seguito tabulati. I percentili sono stati determinati in maniera non parametrica.

Gruppo	Mediana	95%ile	Unità	*n*
Uomini	0,14	0,42	ng/mL	425

Considerare questi limiti soltanto come *linee guida*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

Limitazioni

Le concentrazioni di PSA nel siero non devono essere interpretate come evidenza assoluta della presenza o assenza di una patologia maligna.[9]

La previsione di una recidiva legata ad una patologia prostatica maligna dovrebbe essere basata su una valutazione clinica completa del paziente, che può anche includere determinazioni seriali del PSA nel siero.

I campioni devono essere ottenuti prima della biopsia, della prostatectomia o del massaggio prostatico.[10]

L'espressione del PSA può essere alterata a causa della terapia ormonale per il cancro alla prostata. Di consequenza, è possibile che un risultato basso in seguito al trattamento del cancro prostatico comprensivo di terapia ormonale non rispecchi idoneamente la presenza della malattia recidiva o residua.[13]

L'accuratezza dei dosaggi del PSA libero non può essere valutata dalla determinazione del recupero del PSA aggiunto ai campioni di siero, poiché generalmente la formazione di complessi tra il PSA libero e le proteine leganti il PSA presenti nel siero normale (α_1-antichimotripsina ed α_2-macroglobulina) causa recuperi erroneamente bassi.

Alcuni individui presentano anticorpi anti proteine di topo che potrebbero causare interferenze negli immunodosaggi che impiegano gli anticorpi derivati da topi. I campioni dei pazienti cui sono state somministrate preparazioni di anticorpi monoclonali di topo, per diagnosi o terapia, possono presentare anticorpi umani anti-topo (HAMA). Questi campioni possono produrre risultati errati con questi dosaggi.[6-8] Quindi, i risultati del dosaggio IMMULITE 2000 PSA libero devono essere utilizzati solo unitamente ai risultati di altri dosaggi diagnostici ed alle informazioni disponibili dopo la valutazione clinica del paziente.

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi *in vitro*. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34:27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedi tavole e grafici per dati *rappresentativi*. I risultati sono indicati in ng/mL. (Laddove non diversamente specificato, tutti i dati sono stati generati su campioni di siero raccolti in provette senza gel separatore o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.)

Range di Riferimento: 0,07–25 ng/mL (WHO NIBSC 1st IS 96/668)

Sensibilità analitica: Limite Bianco (il valore più alto atteso per un campione non contenente l'analita; calcolato come il valore che si trova due deviazioni standard al di sopra di quello della calibrazione più bassa): 0,02 ng/mL

Limite di rilevazione (concentrazione rilevabile più bassa; determinata secondo CLSI EP17-A[25]): 0,07 ng/mL

Sensibilità funzionale: (concentrazione con coefficiente di variazione (CV) del 20% determinato in conformità a CLSI EP17-A[25]): 0,07 ng/mL

Effetto Gancio per Dosi Elevate: Nessuno fino a 15 118 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. (Vedere la tabella "Precision".)

Linearità: I campioni sono stati provati sotto varie diluzioni. (Vedere la tabella "Linearity" per i dati rappresentativi.)

Specificità: Il dosaggio IMMULITE 2000 PSA libero è altamente specifico per l'antigene prostatico specifico, con una crossreattività particolarmente bassa vs. altri composti che si trovano naturalmente e che possono essere presenti nei campioni dei pazienti. (Vedi la Tabella "Specificity".)

Bilirubina: La presenza di bilirubina in concentrazioni fino a 200 mg/L non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Biotina: I campioni che contengono biotina a una concentrazione di 3500 ng/mL dimostrano una variazione nei risultati inferiore o pari al 10%.

Emolisi: La presenza di globuli rossi impaccati in concentrazioni fino a 30 µL/mL non ha effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Lipemia: La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 3000 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Tipo di Campione Alternativo: Per determinare l'effetto di campioni alternativi, è stato prelevato del sangue da 15 volontari in provette semplici, eparinizzate, EDTA e Becton Dickinson vacutainer SST. Tutti i campioni sono stati dosati con il dosaggio IMMULITE 2000 PSA Libero. Mediante regressione lineare:

(Eparina) = 1,04 (Siero) – 0,19 ng/mL
r = 0,997

(EDTA) = 1,03 (Siero) – 0,19 ng/mL
r = 0,998

(SST) = 1,08 (tubi semplici) – 0,28 ng/mL
r = 0,99

Valore medio:
37 ng/mL (Eparina)
37 ng/mL (EDTA)
38 ng/mL (SST)
36 ng/mL (Siero)

Comparazione di Metodi: Il dosaggio è stato comparato al dosaggio IMMULITE PSA Libero in 184 campioni di pazienti. (Range di concentrazione: da 0,07 a 25 ng/mL circa. Vedere il grafico.) Mediante regressione lineare:

(IML 2000) = 1,04 (IML) – 0,08 ng/mL
r = 0,998

Valore Medio:
2,37 ng/mL (IMMULITE 2000)
2,35 ng/mL (IMMULITE)

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore Nazionale.

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della
Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd.
è certificato ISO 13485.

Português

PSA Livre

Utilização: Para uso diagnóstico *in vitro* com os Analisadores dos Sistemas IMMULITE 2000 — para a medida quantitativa do antigénio específico da próstata livre, não complexado (fPSA), ou

seja, não ligado a α_1-antiquimiotripisina, ou outras proteínas ligadas no soro.

Números de catálogo: **L2KPF2**
(200 testes)

Código do teste: **fPS**
Cor: **Cinzento claro**

A concentração de PSA livre duma determinada amostra com doseamento de diferentes fabricantes pode variar devido a diferenças em métodos de doseamento e especificidade do reagente. Os resultados apresentados pelo laboratório ao médico devem incluir a identificação do doseamento utilizado. Valores obtidos com diferentes doseamentos de PSA livre não podem ser usados em permutação. Antes de mudar o doseamento, o laboratório deve confirmar os valores de linha base para doentes que estão a ser vigiados ao longo do tempo.

Sumário e explicação do teste

Desde o início do doseamento, por imunoensaio, do antigénio especifico prostático (PSA), tem-se observado que distintas formas imunoreactivas puderam ser isoladas do soro de pacientes com carcinoma da próstata (PCa), após cromatografia de diferênciação molecular.[1] O PSA tem apresentado formação de complexos estáveis com dois dos maiores inibidores extra-celulares da protease no sangue, a α_1-antiquimiotripsina (ACT) e α_2-macroglobulina (AMG)[4]. Nos pacientes com carcinoma da próstata, o PSA forma complexos com a ACT (PSA-ACT) e é típicamente a maior forma em circulação: para aproximadamente 50% destes pacientes, a quantidade de PSA-ACT encontra-se perto de 85% do PSA total presente. Por outro lado, em 12–15% dos pacientes com carcinoma da próstata a forma livre do PSA é a forma predominante[2].

Estudos bioquímicos do PSA isolado do plasma seminal mostram que aproximadamente 35% está livre, tornando-se enzimaticamente inactivo e não reactivo com os inibidores[3] da protease. De acordo com as hipóteses correntes, esta forma molecular representa quer um zimogene inactivo de PSA quer a forma “nicked” ou enzimaticamente inactiva.

A formação de complexo com o ACT resulta na exposição de um número limitado de epítopes antigénicos do PSA, enquanto que a formação de complexo com o AMG encapsula os epítopes antigénicos do PSA. A diferença no reconhecimento destas múltiplas fórmulas de PSA pelos anticorpos reagentes, tem contribuído para as discrepâncias entre os ensaios comerciais de PSA[4].

Os ensaios imunométricos têm sido desenhados para caracterizar selectivamente todas as formas de PSA em circulação: alguns detectam apenas o PSA-ACT, outros apenas o PSA livre e alguns são formulados para ensaiar o PSA total, detectando os epítopes do PSA disponíveis em ambas as formas PSA Livre (não complexado) e PSA complexado à protease inibidora da serina.

Usando ensaios como estes, foi encontrado PSA livre numa fracção significativamente pequena ($p < 0,0001$) da concentração de PSA total em doentes não tratados com CPa do que em doentes com HBP[2].

Literatura variada indica a vantagem de combinar as determinações de PSA total e livre na forma de racio, facilitando a discriminação entre o CP e HBP. Estas determinações devem ser feitas usando ensaios desenvolvidos pelo mesmo fabricante[14,15]. O racio livre-total (% PSA livre) é tipicamente expresso como percentagem: $100 \times$ PSA livre / PSA total, com ambas as unidades em ng/mL. A % de PSA livre é, em média, inferior no CP do que na HBP, e tem sido usado como auxiliar no diagnóstico do CP quando a concentração de PSA total está na zona cinzenta, isto é, entre 4–10 ng/mL[16–19]. Enquanto que um cut-off baixo pode resultar nalguns resultados falsos positivos, um cut-off alto não é provável falhar no diagnóstico do CPa. A % de PSA livre também tem sido investigada numa zona de concentração de PSA total alargada de 2,0–20 ng/mL[15,17,18,20].

A concentração óptima de cut-off de % de PSA livre depende doutros factores também, um dos quais é a próstata e/ou o volume da zona de transição medida por

ecografia transrectal (TRUS) [21,22]. A idade é outro factor: enquanto ambos os PSA's, total e livre, aumentam com o avanço da idade, a % de PSA livre diminui[23]. Estudos mais complexos, empregando redes neurais artificiais (RNAs), têm estes parâmetros e outros em conta, por exp. os resultados de um exame rectal digital (ERD). Usando as RNA pode significativamente aumentar a discriminação entre a HBP e o CPa[24].

Princípio do procedimento

IMMULITE 2000 PSA Livre é um ensaio imunométrico de fase sólida, sequencial, quimioluminescente.

A fase sólida (esfera) é revestida com anticorpo monoclonal murino anti-PSA especifico para o PSA livre (não complexado). A amostra do paciente é incubada com a esfera no primeiro ciclo no qual o PSA livre na amostra se liga ao anticorpo monoclonal especifico anti PSA livre na esfera revestida. O soro não ligado é removido por lavagem centrifuga. É então introduzida no segundo ciclo, reagente com fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugada a anticorpo policlonal de cabra anti-PSA que vai ligar ao PSA livre na esfera de modo a formar um complexo sandwich/anticorpo. A enzima conjugada não ligada é então removida por lavagem centrifuga. Finalmente é adicionado substrato quimioluminescente á esfera obtendo-se um sinal proporcional á enzima ligada.

Ciclos de incubação: 2 × 30 minutos
Tempo para o Primeiro Resultado: 65 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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 PSA Livre não foram ainda testados com todas as possiveis 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: 25 µL de soro

Estabilidade: Estável 24 horas a 2–8°C ou para armazenamentos mais prolongados a –20°C[29,30].

Precauções

Apenas para uso diagnóstico *in vitro*.



PRECAUÇÃO! POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO
Contém material de origem humana. Cada dádiva de sangue ou componente de sangue humano foi testada pelos métodos aprovados pela FDA quanto à presença de anticorpos dos vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e tipo 2 (VIH-2), bem como do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e dos anticorpos do vírus da hepatite C (VHC). Os resultados dos testes foram negativos (não repetidamente reativos). Nenhum teste oferece total garantia de que estes ou outros agentes infeciosos estejam ausentes; este material deve ser manuseado de acordo com as boas práticas laboratoriais e precauções universais[26-28].

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.



H302 + H312, H412

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

Aviso! Nocivo por ingestão ou contacto com a pele. Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial. Evitar a libertação para o ambiente. EM CASO DE INGESTÃO: Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. Eliminar o conteúdo e o recipiente em conformidade com todos os regulamentos locais, regionais e nacionais.
Contém: azida de sódio; Ajustes PSA Livre

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as normas aplicadas.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas obtidas de soro humano foram testadas, dando 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).

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 PSA Livre (L2PF12)
Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com anticorpo monoclonal murino anti-PSA, especifico para a forma livre (não complexada) de PSA. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KPF2: 1 embalagem

Embalagem de Reagente de PSA Livre (L2PFA2)
Com código de barras. 11,5 mL de uma matriz proteica tamponizada, com conservante; 11,5 mL de Fosfatase alcalina (de intestino de bezerro bovino) conjugado a anticorpo anti-PSA de cabra policlonal específico para PSA num soro humano tamponizado, com conservante. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KPF2: 1 embalagem.

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 PSA Livre (LPFL, LPFH)
Dois frascos (nível alto e baixo) de PSA-livre liofilizado numa solução tamponizada 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.
L2KPF2: 1 conjunto

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas da alíquota apropriadas (fornecidas com o "kit") em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Multidiluente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Para diluição no instrumento de amostras de pacientes. Um frasco, de concentrado (pronto a usar) constituido por uma matriz baseada em proteína não humana, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2M2Z: 25 ml **L2M2Z4:** 55 ml

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2M2Z: 3 etiquetas **L2M2Z4:** 5 etiquetas

L2SUBM: Substrato quimioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Kit de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)
L2ZT: 250 Tubos de diluente da amostra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

Também necessário
Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos

Procedimento de doseamento

Ter em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000.

Consultar o Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000 relativamente aos procedimentos de preparação, diluição, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável:
2 semanas

Amostras de controlo de qualidade:

Observe os regulamentos governamentais ou os requisitos de acreditação quanto à frequência do controlo de qualidade.

Utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de PSA Livre.

A Siemens Healthcare Diagnostics recomenda a utilização de materiais de controlo de qualidade comercialmente disponíveis com pelo menos 2 níveis (baixo e alto). É alcançado um nível de desempenho satisfatório quando os valores dos analitos obtidos estiverem dentro dos Limites de Controlo Aceitáveis para o sistema ou dentro dos limites estabelecidos e determinados pelo regime de controlo de qualidade laboratorial interno adequado.

Valores de Referência

Baseado no seu relacionamento com o Kit IMMULITE PSA Livre (veja Comparação de Métodos), pode-se esperar que os doseamentos tenham essencialmente as mesmas faixas de referência.

UM estudo de referência para o IMMULITE Free PSA foi realizado usando amostras de soro de adultos voluntários, incluindo homens com idades variando aproximadamente dos 20 aos 70 anos (central 95%: 22–64 anos, mediana: 40 anos). Os sujeitos, de aparente boa saúde com base num questionário prévio.

Amostras de sangue foram colhidas em França, Alemanha, Holanda e Portugal. Os resultados foram obtidos num laboratório independente na Holanda usando Kits IMMULITE. (As amostras foram colhidas em tubos lisos de vidro sem anticoagulantes, barreiras de gel ou aditivos promotores da coagulação e ensaiados individualmente.

Medianas e percentil de 95 encontram-se tabelados abaixo. Os percentis foram determinados não paramétricamente.

Grupo	Mediano	95%ile	Unidades	*n*
Homens	0,14	0,42	ng/mL	425

Estes valores devem ser considerados apenas como *directrizes*. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores.

Limitações

As concentrações plasmáticas de PSA não devem ser interpretadas como evidência absoluta para a presença ou ausência de doença maligna[9].

A previsão de recorrência da doença prostática maligna deverá estar baseada numa avaliação clínica completa do doente, que pode também incluir determinações de PSA plasmático seriadas.

As amostras devem ser obtidas antes do exame rectal, biópsia, prostectomia ou massagem prostática[10].

Os valores de PSA podem ser alterados devido à terapia hormonal para o cancro da próstata. Consequentemente, um resultado de PSA baixo após um tratamento de cancro da próstata que inclui terapia hormonal pode não reflectir adequadamente a presença de doença residual ou recorrente[13].

A exactidão dos doseamentos de PSA livre não pode ser avaliada com a determinação da recuperação de PSA livre enriquecido nas amostras de soro, devido à formação de complexos entre o PSA livre e as proteínas ligadas por PSA presente nos soros normais (α_1- antiquimotripicina e α_2-macroglobulina) em geral causarão, erróneamente, baixas recuperações.

Alguns indivíduos possuem anticorpos para a proteína do rato que pode causar interferência em imuno-ensaios que empregam anticorpos derivados de ratos. As amostras de doentes que receberam preparações de anticorpos monoclonais de rato para diagnóstico ou terapia, em particular, podem conter anticorpos anti-rato humano (HAMA). Essas amostras podem mostrar resultados erróneos em tais doseamentos[6-8]. Assim os resultados de IMMULITE 2000 Free PSA devem ser usados unicamente em conjunção com os resultados de outro método de diagnóstico e com a informação disponivel do exame clinico do doente.

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 aspectos que se possam correlacionar.

Características do ensaio

Ver tabelas e gráficos para dados representativos da performance 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.

Zona de Trabalho: 0,07–25 ng/mL (WHO NIBSC 1st IS 96/668)

Sensibilidade analítica: Limite de Branco (valor mais alto esperado para uma amostra sem analito; calculado como valor que se encontra dois desvios padrão acima da calibração mais baixa): 0,02 ng/mL

Limite de Detecção (concentração detectável mais baixa; determinado em conformidade com o CLSI EP17-A[25]): 0,07 ng/mL

Sensibilidade funcional: (concentração com coeficiente de variação de 20% (CV) determinado segundo a CLSI EP17-A[25]): 0,07 ng/mL

Efeito Hook de Alta Dose: Nenhum até 15 118 ng/mL

Precisão: As amostras foram doseadas em duplicado durante 20 dias, 2 ensaios por dia, perfazendo um total de 40 ensaios e 80 réplicas. (Ver a tabela de "Precision".)

Linearidade: As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. (Ver a tabela de "Linearity" para dados representativos.)

Especificidade: O PSA Livre IMMULITE 2000 é altamente específico para o antigénio específico da próstata (fracção livre), com uma reactividade cruzada particularmente baixa para outros compostos de ocorrência natural que possam estar presentes nas amostras de doentes. (Ver tabela de "Specificity".)

Bilirrubina: A presença de bilirrubina em concentrações até 200 mg/L não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Biotina: As amostras que contenham biotina a uma concentração de 3500 ng/mL demonstram uma alteração igual ou inferior a 10% nos resultados.

Hemolise: A Presença de eritrocitos em concentrações até 30 µL/mL não tem efeito no resultado, dentro da precisão do ensaio.

Lipemia: A presença de triglicéridos em concentrações até 3000 mg/dL não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Tipo de amostra alternativa: Para determinar o efeito de amostras alternatives, foi colhido sangue de 15 voluntários em tubos secos, com EDTA, heparinizados e tubos de vacum SST da Becton Dickinson. Todas as amostras foram testadas através do procedimento IMMULITE 2000 PSA Livre. Regressão linear:

(Heparina) = 1,04 (Soro) – 0,19 ng/mL
r = 0,997

(EDTA) = 1,03 (Soro) – 0,19 ng/mL
r = 0,998

(SST) = 1,08 (tubos simples) – 0,28 ng/mL
r = 0,99

Médias:
37 ng/mL (Heparina)
37 ng/mL (EDTA)
38 ng/mL (SST)
36 ng/mL (Soro)

Comparação de Métodos: O doseamento foi comparado ao Kit de PSA Livre IMMULITE em 184 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 0,07 a 25 ng/mL. Consulte o gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 1,04 (IML) – 0,08 ng/mL
r = 0,998

Médias:
2,37 ng/mL (IMMULITE 2000)
2,35 ng/mL (IMMULITE)

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE is a trademark of Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2020 Siemens Healthcare Diagnostics. All rights reserved.

Made in: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

CE 0197

2020-05-22

PIL2KPF – 31

cc#EU23657, cc#EU23657A, cc#EU23664

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

IVD

Symbol Definition
En: *In vitro* diagnostic medical device
De: Medizinisches Gerät zur *In-vitro* Diagnose
Es: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
Fr: Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
It: Dispositivo medico per diagnostica *in vitro*
Pt: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

Symbol Definition



En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo



En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante



En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia



En: CE Mark
De: CE-Kennzeichen
Es: Marca CE
Fr: Marque CE
It: Marchio CE
Pt: Marca CE



En: CE Mark with identification number of notified body
De: CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle
Es: Marca CE con número de identificación del organismo notificado
Fr: Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié
It: Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato
Pt: Marca CE, com número de identificação do organismo notificado



En: Consult instructions for use
De: Bedienungshinweise beachten
Es: Consulte las instrucciones de uso
Fr: Consulter le mode d'emploi
It: Consultare le istruzioni per l'uso
Pt: Consulte as instruções de utilização

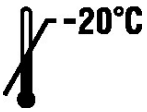
Symbol Definition



En: Caution! Potential Biohazard
De: Vorsicht! Biologisches Risikomaterial
Es: ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial
Fr: Avertissement ! Risque biologique potentiel
It: Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico
Pt: Atenção! Potenciais Riscos Biológicos



En: Temperature limitation (2–8°C)
De: Temperaturgrenze (2–8°C)
Es: Limitación de temperatura (2–8°C)
Fr: Limites de température (2–8°C)
It: Limiti di temperatura (2–8°C)
Pt: Limites de temperatura (2–8°C)



En: Upper limit of temperature (≤ -20°C)
De: Obere Temperaturgrenze (≤ -20°C)
Es: Límite superior de temperatura (≤ -20°C)
Fr: Limite supérieure de température (≤ -20°C)
It: Limite superiore di temperatura (≤ -20°C)
Pt: Limite máximo de temperatura (≤ -20°C)



En: Lower limit of temperature (≥ 2°C)
De: Mindesttemperatur (≥ 2°C)
Es: Límite inferior de temperatura (≥ 2°C)
Fr: Limite inférieure de température (≥ 2°C)
It: Limite inferiore di temperatura (≥ 2°C)
Pt: Limite mínimo de temperatura (≥ 2°C)



En: Do not freeze (> 0°C)
De: Nicht einfrieren (> 0°C)
Es: No congelar (> 0°C)
Fr: Ne pas congeler (> 0°C)
It: Non congelare (> 0°C)
Pt: Não congelar (> 0°C)



En: Do not reuse
De: Nicht zur Wiederverwendung
Es: No reutilizar
Fr: Ne pas réutiliser
It: Non riutilizzare
Pt: Não reutilizar

Symbol	Definition
	**En:** Keep away from sunlight **De:** Vor Sonneneinstrahlung schützen **Es:** Proteger de la luz solar **Fr:** Maintenir hors de portée de la lumière du soleil **It:** Non esporre alla luce del sole **Pt:** Manter afastado da luz solar
LOT	**En:** Batch code **De:** Chargenbezeichnung **Es:** Número de lote **Fr:** Numéro de code du lot **It:** Codice lotto **Pt:** Código de lote
	**En:** Contains sufficient for (n) tests **De:** Es reicht für (n) Tests **Es:** Contiene suficiente para (n) pruebas **Fr:** Contient du matériel suffisant pour (n) tests **It:** Contiene materiale sufficiente per (n) test **Pt:** Contém o suficiente para (n) testes
2008-01	**En:** Date format (year-month) **De:** Datumsformat (Jahr-Monat) **Es:** Formato de fecha (año-mes) **Fr:** Format de la date (année-mois) **It:** Formato data (anno-mese) **Pt:** Formato de data (ano-mês)
	**En:** Use by **De:** Verwendbar bis **Es:** Fecha de caducidad **Fr:** A utiliser avant **It:** Usare entro **Pt:** Usar até
	**En:** Health Hazard **De:** Gesundheitsgefährdung **Es:** Peligro para la salud **Fr:** Dangereux pour la santé **It:** Pericolo per la salute **Pt:** Perigo para a saúde
	**En:** Exclamation Mark **De:** Ausrufezeichen **Es:** Signo de exclamación **Fr:** Point d'exclamation **It:** Punto esclamativo **Pt:** Ponto de exclamação
	**En:** Corrosion **De:** Korrosion **Es:** Corrosión **Fr:** Corrosion **It:** Corrosione **Pt:** Corrosão

Symbol	Definition
	**En:** Skull and Crossbones **De:** Totenkopf mit gekreuzten Knochen **Es:** Calavera y tibias cruzadas **Fr:** Tête de mort sur tibias croisés **It:** Teschio e tibie incrociate **Pt:** Caveira sobre tíbias cruzadas
	**En:** Environment **De:** Umwelt **Es:** Medio ambiente **Fr:** Environnement **It:** Ambiente **Pt:** Ambiente
BEAD PACK	**En:** Bead Pack **De:** Kugel-Container **Es:** Cartucho de bolas **Fr:** Cartouche de billes **It:** Contenitore di biglie **Pt:** Embalagem de esferas
TEST UNIT	**En:** Test Unit **De:** Testeinheit **Es:** Unidades de análisis **Fr:** Unité de test **It:** Test Unit **Pt:** Unidades de Teste
REAG WEDGE REAG WEDGE A REAG WEDGE B REAG WEDGE D	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto

Symbol	Definition
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL CONTROL 1 CONTROL 2 CONTROL 3	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo

Symbol	Definition
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

Free T3

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 Free T3

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the quantitative measurement of free T3 in serum. Measurements of free T3 are used in the diagnosis and treatment of thyroid disease.

Catalog Numbers:
L2KF32 (200 tests)
L2KF36 (600 tests)

Test Code: **FT3** Color: **Aqua**

Summary and Explanation

Under normal physiological conditions triiodothyronine (T3) represents approximately 5 percent of the thyroid hormone in plasma. Although present in lower concentration than thyroxine (T4), T3 has greater metabolic activity, faster turnover and a larger volume of distribution. It is produced largely through extrathyroidal conversion of T4. Like T4, it circulates almost entirely bound to the carrier proteins TBG, pre-albumin and albumin. Free T3 constitutes only about 0.25% of the total T3 in circulation.

Measurement of total T3 by immunoassay has a number of well-established uses. In the presence of elevated free or total T4, total T3 measurements help confirm a hyperthyroidism diagnosis. Abnormal elevation of total T3 may also occur when the total T4 concentration is normal — a condition known as "T3 toxicosis".

For the most part, free T3 levels correlate closely with total T3 levels. Total T3, however, depends not only on thyroid status and the peripheral conversion of T4 to T3, but also on the concentration of thyroid hormone-binding proteins. Free T3, on the other hand, is largely unaffected by variations in these carrier proteins. Thus, the TBG elevations typical of pregnancy, oral contraceptive use, and estrogen therapy effects an increase in the total T3 level while leaving the free T3 concentration basically unchanged.

The free T3 concentration typically reflects a patient's actual thyroid status more reliably than the total T3 concentration.

Principle of the Procedure

Competitive, analog-based immunoassay.[25,26]

Incubation Cycles: 2 × 30 minutes

Specimen Collection

Because EDTA would affect results, it should not be used as an anticoagulant.

Lipemic or grossly contaminated samples may give erroneous results. 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 T3 has not been tested with all possible variations of tube types.

Volume Required: 100 µL serum

Storage: 2 days at 2–8°C, or 2 months at –20°C.

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.



CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD
Contains human source material. Each donation of human blood or blood component was tested by FDA-approved methods for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) as well as for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis C virus (HCV). The test results were negative (not repeatedly reactive). No test offers complete assurance that these or other infectious agents are absent; this material should be handled using good laboratory practices and universal precautions.[27-29]

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.

H412	Harmful to aquatic life with long lasting effects.
P273, P501	Avoid release to the environment. Dispose of contents and container in accordance with all local, regional, and national regulations. **Contains:** sodium azide; Free T3 Adjustors

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 T3 Bead Pack (L2F312)
With barcode. 200 beads, coated with monoclonal murine anti-T3. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KF32: 1 pack
L2KF36: 3 packs

Free T3 Reagent Wedge (L2F3A2)
With barcode, containing three liquid reagents, 10.5 mL, 10.5 mL and 11.5 mL respectively, ready to use. The first and second reagents consist of ligand-labeled T3 analog in buffer, with preservative. The third reagent consists of alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to anti-ligand in buffer, with preservative. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KF32: 1 wedge
L2KF36: 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 T3 Adjustors (LF3L, LF3H)
2 vials (Low and High), of lyophilized free T3 in processed human serum, with preservative. Reconstitute each vial with **4.0 mL** distilled or deionized water. Stable at 2–8°C for 30 days after reconstitution, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KF32: 1 set
L2KF36: 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; controls

Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual for preparation, setup, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval: 2 weeks

Quality Control Samples: Follow government regulations or accreditation requirements for quality control frequency.

Use controls or serum pools with at least two levels (low and high) of free T3.

Siemens Healthcare Diagnostics recommends the use of commercially available quality control materials with at least 2 levels (low and high). A satisfactory level of performance is achieved when the analyte values obtained are within the Acceptable Control Range for the system, or within an established range determined by an appropriate internal laboratory quality control scheme.

Expected Values

Adult: A reference range study for IMMULITE 2000 Free T3 was performed on 212 apparently healthy adults yielding a central 95% range of 1.8–4.2 pg/mL for euthyroid adults.

Pediatric: Reference intervals for the pediatric population (children and adolescents) were established for the IMMULITE Free T3 assay in accordance with CLSI guideline EP28-A3C.[30]

For analysis of data, the population was divided into three age subgroups:

- Infants: subjects aged 1–23 months
- Children: subjects aged 2–12 years
- Adolescents: subjects aged 13–20 years

A non-parametric approach was used to establish the reference intervals for children and adolescents where the 2.5 and 97.5 percentiles of the distribution of values were calculated. For the infant population, a robust measure of location and spread, as developed by Horn and Pesce, was used to estimate the 2.5 and the 97.5 percentile reference intervals, accommodating the smaller sample size.[30–32]

The reference intervals detailed by age group and number of samples are presented in the Reference Intervals table.

IMMULITE 2000 Free T3 Pediatric Reference Intervals

Age Group	*n*	Conventional (pg/mL)	SI (pmol/L)
Infants (1–23 Months)	81	3.6–7.5	5.5–11.5
Children (2–12 Years)	195	3.7–6.6	5.7–10.1
Adolescents (13–20 Years)	148	3.1–5.9	4.8–9.1

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

Limitations

The free T3 assay serves primarily as a confirmatory test for hyperthyroidism and is of very limited value in the context of hypothyroidism. There may be some overlap between the euthyroid and hyperthyroid ranges.

The interpretation of free T3 results is complicated by a variety of drugs which can affect the binding of T3 to the thyroid hormone carrier proteins.

In severe nonthyroidal illness, the assessment of thyroid status becomes especially difficult. Since some patients in this category may suffer from concomitant primary hypothyroidism or from a compensatory secondary hypothyroidism, TSH immunoassay has been recommended as a confirmatory test in this context.

In rare conditions associated with extreme variations in the albumin-binding capacity — such as familial dysalbuminemic hyperthyroxinemia (FDH) — direct free thyroid hormone assays may yield misleading results.

Circulating autoantibodies to T3, and hormone-binding inhibitors, may interfere with the assay.[2,3,12]

Heparin has been reported to have both *in vivo* and *in vitro* effects on free thyroid hormones.[8] Hence, samples should not be collected during or soon after the administration of this anticoagulant.

Since dilution shifts the equilibrium between free and protein-bound T3, the assay cannot be expected to maintain linearity under dilution. Accordingly, no attempt should be made to dilute samples with high free T3 results. In particular, any sample with a result greater than the upper limit of the assay's calibration range should simply be reported as such.

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 pg/mL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Conversion Factor:
pg/mL × 1.536 → pmol/L

Calibration Range: 1.0–40 pg/mL (1.5–61 pmol/L)

The assay is traceable to an internal standard manufactured using qualified materials and measurement procedures.

Analytical Sensitivity: 1.0 pg/mL (1.5 pmol/L)

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.)

Specificity: The antibody is highly specific for free T3. (See "Specificity" table.)

Effect of TBG: The assay's zero calibrator was spiked with T3-stripped TBG resin (20, 40 and 80 µg/mL) and assayed. The results showed no interference. (See "Effect of TBG" table.)

Effect of Albumin: Samples spiked with charcoal-absorbed human serum albumin (10, 20 and 50 mg/mL) were assayed. (See "Effect of Albumin" table.)

Effect of Nonesterified Fatty Acids (NEFA): Samples spiked with oleic acid (2.5 and 5.0 mmol/L) were assayed. Results show no significant effect at 2.5 mmol/L, but decreased values at the higher level. (See "Effect of Nonesterified Fatty Acids" table. Increased levels of NEFA may be encountered in late pregnancy and in heparin therapy.)

Other Compounds: Results for samples assayed after spiking with phenylbutazone (10, 100 and 1000 µg/dL), or phenytoin (5, 10, 25, and 50 µg/mL), or salicylate (10, 25, 50 and 100 mg/dL) showed no effect from these compounds. (See "Effect of Phenylbutazone", "Effect of Phenytoin" and "Effect of Salicylate" tables.)

Bilirubin: Presence of bilirubin in concentrations up to 200 mg/L has no effect on results, within the precision of the assay.

Biotin: Specimens that contain biotin at a concentration of 1500 ng/mL demonstrate a less than or equal to 10% change in results. Biotin concentrations greater than this may lead to incorrect results for patient samples.

Hemolysis: Presence of hemoglobin in concentrations up to 384 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Highly lipemic samples may interfere with the assay. (See "Effect of Lipemia" table.)

Method Comparison: The assay was compared to IMMULITE Free T3 on 105 samples. (Concentration range: approximately 1 to 14 pg/mL.)
By linear regression:

(IML 2000) = 1.05 (IML) + 0.41 pg/mL
r = 0.977

Means:
3.5 pg/mL (IMMULITE 2000)
3.0 pg/mL (IMMULITE)

References

1) Albertini A, Ekins RP, editors. Free hormones in blood. Amsterdam: Elsevier Biomedical Press, 1982. 2) Beck-Peccoz P, Romelli PB, et al. Free T4 and free T3 measurement in patients with anti-iodothyronine autoantibodies. In: Albertini A, Ekins RP, editors. Free hormones in blood. Amsterdam: Elsevier Biomedical Press, 1982: 231-8. 3) Bhagat CI, et al. Interference in radioimmunoassay of total serum thyroxin and free thyroxin due to thyroxin-binding autoantibodies. Clin Chem 1983;29:1324-5. 4) Borst GC, Eil C, Burman KD. Euthyroid hyperthyroxinemia; a review. Ann Intern Med 1983;98:366-78. 5) Burger AG, Lambert MJ, Cullen M. Pharmacological influence on free thyroid hormones. In: Albertini A, Ekins RP, editors. Free hormones in blood. Amsterdam: Elsevier Biomedical Press, 1982: 303-14. 6) Caroyan P, et al. Assessment and clinical significance of free thyroid hormone radioimmunoassays. In: Ekins RP, et al, editors. Free thyroid hormones. Amsterdam: Excerpta Medica, 1979: 181-93. 7) Carayon P, et al. Free thyroid hormones in euthyroidism: evaluation of normal ranges in various physiological conditions. In: Albertini A, Ekins RP, editors. Free hormones in blood. Amsterdam: Elsevier Biomedical Press, 1982: 179-85. 8) Diagnostic Products Corporation. Coat-A-Count Free T4, package insert (PITKF4). 9) Ekins RP. Methods for the measurement of free thyroid hormones. In: Ekins RP, editor. Free thyroid hormones. Amsterdam: Excerpta Medica, 1979:72-106. 10) Ekins RP. The radioimmunoassay of free thyroid hormones in blood. In: Albertini A, Ekins RP, editors. Free hormones in blood. Amsterdam: Elsevier Biomedical Press, 1982: 73-90. 11) Ellis SM, Ekins RP. The radioimmunoassay of serum free triiodothyronine and thyroxine. In: Pasternak CA, editor. Radioimmunoassay in clinical biochemistry. London: Heyden, 1975: 187-94. 12) John R. Autoantibodies to thyroxine and interference with free thyroxine assay. Clin Chem 1983;29:581-2. 13) Larsen PR. The use of serum T3 measurements by radioimmunoassay in the diagnosis of thyroid disease. In: Abraham GE, editor. Radioassay systems in clinical endocrinology. New York: Marcel Dekker, 1981: 117-29. 14) Parlow ME, Oddie TH, Fisher DA. Evaluation of serum triiodothyronine and adjusted triiodothyronine (free triiodothyronine index) in pregnancy. Clin Chem 1977;23:490-2. 15) Lin T, Nankin HR. Direct measurement of free thyroxine in patients with T3-toxicosis. Horm Metab Res 1980;12:611-4. 16) Mardell R, Gerson M. A method of assessing serum triiodothyronine concentrations that is independent of subject's age and variations in concentrations of binding proteins in serum. Clin Chem 1978;24:1792-6. 17) Pennisi F, Romelli PB, Vancheri L. Measurement of free thyroid hormones in serum by column adsorption chromatography and radioimmunoassay. In: Albertini A, Ekins RP, editors. Free hormones in blood. Amsterdam: Elsevier Biomedical Press, 1982: 107-12. 18) Roux F, et al. Clinical merits in the radioimmunoassay of free serum tetraiodothyronine (FT4) and free serum triiodothyronine (FT3). Int J Nuclear Med Biol 1980;7:386-90. 19) Salmon D, et al. Chemical hyperthyroidism: serum triiodothyronine levels in clinically euthyroid individuals treated with levothyroxine. Arch Intern Med 1982;142:571-3. 20) Sawin CT, Chopra D, et al. The free triiodothyronine (T3) index. Ann Intern Med 1978;88:474-7. 21) Siegel L, McDonald LJ, Robin NI. Estimation of free triiodothyronine in serum: a new method and its clinical relevance. Clin Chem 1978;24:1891-4. 22) Smals AGH, Ross AH, Kloppenborg PWC. Dichotomy between serum free triiodothyronine and free thyroxine concentrations in familial thyroxine-binding globulin deficiency. J Clin Endocrinol Metab 1981;53:917-22. 23) Walfish PG. Thyroid physiology and pathology. In: Collu R, Ducharme JR, Guyda H, editors. Pediatric endocrinology. New York: Raven Press, 1981: 357-431. 24) Weeke J, et al. A longitudinal study of serum TSH, and total and free iodothyronines during normal pregnancy. Acta Endocrinol 1982;101:531-7. 25) Witherspoon LR, El Shami AS, et al. Chemically blocked analog assays for free thyronines. Clin Chem 1988;34:9-16 and 17-23. 26) Diagnostic Products Corporation. Albumin-related artifacts in free thyroid hormone assays. Los Angeles, 1987 (Document number: ZJ026). 27) Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. MMWR, 1988;37:377–82, 387–8. 28) Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3. 29) Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030. 30) Clinical and Laboratory Standards Institute. *Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Third Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010. CLSI Guideline EP28-A3C. 31) Horn PS, Pesce AJ, Reference Intervals. A User's Guide, Washington, DC:AACC Press; 2005. 32) Reed AH, Henry RJ, Mason WB. Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. 1971;17:275-284.

Technical Assistance

In the United States, contact Siemens Healthcare Diagnostics Technical Services department. Tel: 877.229.3711. Outside the United States, contact your National Distributor.

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

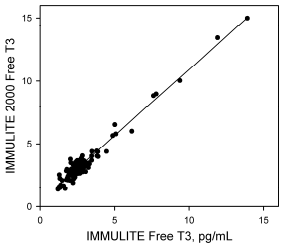
Precision (pg/mL)

		Within-Run[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	2.5	0.21	8.4%	0.25	10%
2	3.2	0.29	9.1%	0.30	9.4%
3	3.8	0.34	9.0%	0.38	10%
4	4.2	0.24	5.7%	0.34	8.1%
5	5.7	0.31	5.4%	0.40	7.0%
6	6.5	0.38	5.9%	0.48	7.4%
7	13	0.56	4.3%	0.70	5.4%

Effect of Albumin (pg/mL)

		Albumin (mg/mL Added)[1]		
	Unspiked[2]	10	20	50
1	2.0	1.8	1.9	2.4
2	2.0	2.3	2.0	1.7
3	2.9	2.9	2.9	3.0
4	3.0	3.0	3.5	3.1
5	3.0	3.1	3.4	3.0
6	3.8	3.9	4.1	3.8

Method Comparison



(IML 2000) = 1.05 (IML) + 0.41 pg/mL
r = 0.977

Effect of TBG (pg/mL)

TBG (µg/mL Added)[1]	Binding (%B/B$_0$)[2]
0	100%
20	92%
40	95%
80	90%

Effect of Nonesterified Fatty Acids (pg/mL)

	Oleic Acid (mmol/L Added)[1]		
	Unspiked[2]	2.5	5.0
1	2.1	2.6	1.3
2	2.4	2.9	1.7
3	2.8	2.9	1.5
4	2.9	2.7	1.6
5	3.0	3.2	1.9
6	3.5	3.8	2.4

Effect of Phenylbutazone (pg/mL)

		Phenylbutazone (µg/dL Added)[1]		
	Unspiked[2]	10	100	1000
1	2.2	2.0	2.3	2.5
2	2.5	2.4	2.7	2.8
3	2.6	2.6	2.8	2.6
4	3.1	3.3	3.2	3.2
5	3.3	3.3	3.3	3.2
6	3.6	3.4	3.2	3.7

Effect of Salicylate (pg/mL)

		Salicylate (mg/dL Added)[1]			
	Unspiked[2]	10	25	50	100
1	2.2	2.9	2.7	2.9	2.8
2	2.7	2.9	3.0	2.6	2.3
3	2.8	2.6	2.4	2.5	2.6
4	3.6	3.2	4.1	3.8	3.0
5	4.0	3.7	3.9	3.7	3.5
6	4.0	4.5	4.3	4.1	3.7
7	4.2	4.5	4.2	4.0	3.3
8	4.4	3.7	4.0	3.3	3.5
9	6.9	8.0	7.7	7.6	6.7
10	9.7	9.4	9.3	8.7	8.8
11	12.4	12.2	12.0	11.0	10.8
12	16	15	15	15	14

Effect of Phenytoin (pg/mL)

		Phenytoin (µg/mL Added)[1]			
	Unspiked[1]	5	10	25	50
1	2.5	2.5	2.6	2.5	2.8
2	2.9	2.6	2.5	2.6	2.7
3	3.0	2.9	2.5	2.7	2.7
4	3.0	2.9	2.9	3.2	3.1
5	6.4	6.8	6.9	7.2	7.1
6	7.7	7.6	7.5	7.0	7.6

Effect of Lipemia

	Triglycerides Added mg/dL	Observed[1]	Expected[2]	%O/E[3]
1	—	2.0		
	250	2.1	2.0	105%
	500	2.1	1.9	111%
	1000	1.8	1.9	95%
	2000	1.7	1.8	94%
	3000	1.6	1.7	94%
2	—	2.1		
	250	1.8	2.1	86%
	500	2.1	2.1	100%
	1000	1.9	2.0	95%
	2000	1.9	1.9	100%
	3000	2.1	1.8	117%
3	—	2.6		
	250	2.4	2.6	92%
	500	2.3	2.6	88%
	1000	2.4	2.5	96%
	2000	1.7	2.4	71%
	3000	1.4	2.2	64%
4	—	2.7		
	250	2.7	2.7	100%
	500	2.3	2.7	85%
	1000	2.5	2.6	96%
	2000	2.2	2.5	88%
	3000	2.3	2.3	100%
5	—	2.9		
	250	2.8	2.9	97%
	500	2.6	2.8	93%
	1000	2.3	2.8	82%
	2000	2.3	2.6	88%
	3000	1.9	2.5	76%
6	—	3.3		
	250	2.8	3.3	85%
	500	3.3	3.2	103%
	1000	2.7	3.1	87%
	2000	2.6	3.0	87%
	3000	2.4	2.8	86%

Specificity

Compound[1]	pg/mL Added[2]	% Cross-reactivity[3]
L-Thyroxine (T4)	50,000	ND
D-Thyroxine	50,000	ND
Triiodothyroacetic acid	5000	0.073%
Tetraiodothyroacetic acid	200,000	ND
Diiodo-L-tyrosine	10,000,000	ND
Methimazole	10,000,000	0.00002%
5,5'-Diphenylhydantoin	10,000,000	ND
Phenylbutazone	10,000,000	ND
6-*n*-Propyl-2-thiouracil	10,000,000	ND
Triido-L-tyrosine	10,000,000	0.00002%

ND: Not detectable[4]

Deutsch. **Precision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]S (Standardbereich), [5]CV (Variationskoeffizient). **Effect of Albumin.** [1]Albumin (mg/ml zugefügt). [2]ohne Zugabe von. **Effect of TBG.** [1]TBG (µg/ml zugefügt), [2]Bindung (%B/B_0). **Effect of Nonesterified Fatty Acids.** [1]Ölsäure (mmol/l zugefügt), [2]Ohne Zugabe von. **Effect of Phenylbutazone.** [1]Phenylbutazon (µg/dl zugefügt), [2]Ohne Zugabe von. **Effect of Phenytoin.** [1]Phenytoin (µg/ml zugefügt), [2]Ohne Zugabe von. **Effect of Salicylate.** [1]Salizylat (mg/dl zugefügt), [2]Ohne Zugabe von. **Effect of Lipemia:** [1] Triglyceride zugefügt, [2]Beobachtet (B), [3]Erwartet (E). **Specificity**: [1]Verbindung, [2]zugesetzte Menge, [3]% Kreuzreaktivität, [4]NN: Nicht nachweisbar. **Method Comparison.** Free T3: Freies T3.

Español. **Precision**: [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV. **Effect of Albumin.** [1]Albúmina (mg/ml añadidos). [2]Sin añadir. **Effect of TBG.** [1]TBG (µg/ml añadidos), [2]Unión (%U/U_0). **Effect of Nonesterified Fatty Acids.** [1]Ácido oleico (mmol/l añadidos), [2]Sin añadir. **Effect of Phenylbutazone.** [1]Fenilbutazona (µg/dl añadidos), [2]Sin añadir. **Effect of Phenytoin.** [1]Fenitoína (µg/ml añadidos), [2]Sin añadir. **Effect of Salicylate.** [1]Salicilato (mg/dl añadidos), [2]Sin añadir. **Effect of Lipemia:** [1]Triglicéridos añadidos, [2]Observado (O), [3]Esperado (E). **Specificity**: [1]Compuesto, [2]Cantidad añadidos, [3]% Reacción cruzada, [4]ND: no detectable. **Method Comparison.** Free T3: T3 libre.

Français. **Precision**: [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]SD, [5]CV. **Effect of Albumin.** [1]Albumine (mg/ml ajouté). [2]Pur. **Effect of TBG.** [1]TBG (µg/ml ajouté), [2]Liaison (L/L_0%). **Effect of Nonesterified Fatty Acids.** [1]Acide oléique (mmol/l ajouté), [2]Pur. **Effect of Phenylbutazone.** [1]Phénylbutazone (µg/dl ajouté), [2]Pur. **Effect of Phenytoin.** [1]Phénytoïne (µg/ml ajouté), [2]Pur. **Effect of Salicylate.** [1]Salicylate (mg/dl ajouté), [2]Pur. **Effect of Lipemia:** [1]Triglycérides ajouté, [2]Observé (O), [3]Attendu (A). **Specificity**: [1]Composé, [2]ajouté, [3]Réaction croisée%. [4]ND: non détectable. **Method Comparison.** Free T3: T3 libre.

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione). **Effect of Albumin.** [1]Albumina (mg/ml aggiunti). [2]Unspiked. **Effect of TBG.** [1]TBG (µg/ml aggiunti), [2]Legame (%L/L_0). **Effect of Nonesterified Fatty Acids.** [1]Acido oleico (mmol/l aggiunti), [2]Unspiked. **Effect of Phenylbutazone.** [1]Fenilbutazone (µg/dl aggiunti), [2]Unspiked. **Effect of Phenytoin.** [1]Fenitoina (µg/ml aggiunti), [2]Unspiked. **Effect of Salicylate.** [1]Salicilato (mg/dl aggiunti), [2]Unspiked. **Effect of Lipemia:** [1]Trigliceridi aggiunti, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A). **Specificity**: [1]Composto, [2]quantità aggiunta, [3]Percentuale di Crossreattività, [4]ND: non determinabile. **Method Comparison.** Free T3: T3 Libero.

Português. **Precision**: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação. **Effect of Albumin.** [1]Albumina (mg/ml adicionados). [2]Não adicionada. **Effect of TBG.** [1]TBG (µg/ml adicionados), [2]Ligação (%L/L_0). **Effect of Nonesterified Fatty Acids.** [1]ácido oléico (mmol/l adicionados), [2]Não adicionada. **Effect of Phenylbutazone.** [1]Fenilbutazona (µg/dl adicionados), [2]Não adicionada. **Effect of Phenytoin.** [1]Fenitoína (µg/ml adicionados), [2]Não adicionada. **Effect of Salicylate.** [1]Salicilato (mg/dl adicionados), [2]Não adicionada. **Effect of Lipemia:** [1]Trigliceridos adicionados, [2]Observado (O), [3]Esperado (E). **Specificity**: [1]Composto, [2]Quantidade adicionada, [3]Percentagem de reacção cruzada, [4]ND: não detectável. **Method Comparison.** Free T3: T3 livre.

Deutsch

IMMULITE 2000 Freies T3

Anwendung: *In-vitro*-Diagnostikum zur quantitativen Bestimmung von freiem T3 im Serum unter Verwendung der IMMULITE® 2000 Analysesysteme. Messungen des freien T3 erfolgen zur Diagnose und Behandlung von Schilddrüsenerkrankungen.

Artikelnummern:
L2KF32 (200 tests)
L2KF36 (600 tests)

Testcode: **FT3** Farbe: **türkis**

Klinische Relevanz

Unter physiologischen Bedingungen beträgt der Anteil von Trijodothyroxin (T3) circa 5% an den Schilddrüsenhormonen im Plasma. Obwohl das T3 in deutlich geringerer Konzentration vorliegt als das T4, zeigt es eine größere metabolische Aktivität, einen schnelleren Umsatz und eine breitere Verteilung im Organismus. Der größte Anteil T3 wird durch die Konversion aus T4 gebildet. Wie das T4, ist der Haupteil des T3 im Plasma an die Trägerproteine TBG, Präalbumin und Albumin gebunden. Die ungebundene Fraktion, das Freie T3, hat nur einen Anteil von circa 0,25% an der gesamten T3-Konzentration im Plasma.

Bei verschiedenen, gut beschriebenen klinischen Fragestellungen, ist die Bestimmung des T3 von Bedeutung. Werden erhöhte Freie- oder Gesamt-T4 Werte gefunden, unterstützt die Messung des T3 die Diagnosestellung des Hyperthyreoidismus. Deutlich erhöhte T3-Werte, bei normalen T4-Konzentrationen, werden bei der „T3-Toxikose“ (T3-Hyperthyreose) gefunden.

Normalerweise korreliert die Freie T3-Konzentration mit der totalen T3-Konzentration. Die T3-Konzentration ist aber nicht nur vom Schilddrüsenstatus und von der periphären Umsetzung T4 zu T3 abhängig sondern zusätzlich von der Konzentration der Trägerproteine. Die Freie T3-Konzentration ist von diesen Schwankungen der Trägerproteinkonzentration unabhängig. Besonders die TBG-Konzentration ist unter verschiedenen Bedingungen wie Schwangerschaft, Einnahme oraler Kontrazeptiva und Östrogen-Therapie erhöht, was zu einer Erhöhung des Gesamt-T3 Spiegels führt, während die Konzentration des freien T3 unverändert bleibt.

Normalerweise beschreibt die freie T3-Konzentration den aktuellen Schilddrüsenstatus des Patienten besser als die Gesamt-T3 Konzentration.

Methodik

Kompetitiver Immunoassay mit Verwendung eines Analogons.[25,26]

Inkubationszyklen: 2 × 30 Minuten

Probengewinnung

Da EDTA die Ergebnisse beeinflussen würde, sollte es nicht als Antikoagulanz verwendet werden.

Lipämische oder grob kontaminierte Proben können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. 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 Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln 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 T3 sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden.

Erforderliche Menge: 100 µl Serum

Lagerung: 2 Tage bei 2–8°C oder 2 Monate bei –20°C.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *in vitro*-Diagnostik.

VORSICHT! BIOLOGISCHES RISIKOMATERIAL
Enthält Material humanen Ursprungs. Alle Blutspenden oder Blutkomponenten menschlicher Herkunft wurden nach FDA-genehmigten Methoden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die HI-Viren Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2) sowie von Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und Antikörpern gegen den Hepatitis C-Virus (HCV) getestet. Die Testergebnisse waren negativ (nicht wiederholt reaktiv). Durch keinen Test kann das Vorhandensein dieser oder anderer infektiöser Stoffe vollständig ausgeschlossen werden. Dieses Material ist mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und gemäß der allgemein anerkannten guten Laborpraxis zu handhaben.[27-29]

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.

H412	Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.
P273, P501	Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Inhalt und Behälter sind in Übereinstimmung mit den gesetzlichen Bestimmungen zu entsorgen. **Enthält:** Natriumazid; Freies T3 Kalibratoren

Reagenzien: Bei 2–8°C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Bestimmten Komponenten wurde Natriumazid (< 0,1 g/dl) hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu verhindern, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

Chemilumineszenz-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 T3 Kugel-Container (L2F312)
Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit monoklonalen T3-Antikörper (Maus). Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.
L2KF32: 1 Container
L2KF36: 3 Container

Freies T3 Reagenzbehälter (L2F3A2)
Mit Barcode. Enthält drei flüssige Reagenzien à 10,5 ml, 10,5 ml und 11,5 ml, gebrauchsfertig. Das erste und das zweite Reagenz enthält ligandmarkiertes T3 Analog in Puffer, mit Konservierungsstoffen. Das dritte Reagenz enthält alkalische Phosphatase (Kalb) konjugiert mit Anti-Ligand in Puffer, mit Konservierungsstoffen. Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.
L2KF32: 1 Behälter
L2KF36: 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 T3 Kalibratoren (LF3L, LF3H)
2 Fläschchen (niedrig und hoch) mit lyophilisiertem freien T3 in behandelten humanem Serum, mit Konservierungsmittel. Jedes Fläschchen jeweils mit **4,0 ml** destilliertem bzw. deionisiertem Wasser auflösen. Nach

Rekonstituierung 30 Tage bei 2–8°C, sonst 6 Monate (aliquotiert) bei –20°C haltbar.
L2KF32: 1 Set
L2KF36: 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; Röhrchen; Kontrollen

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Kalibration, Test- und Qualitätskontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
2 Wochen

Proben zur Qualitätskontrolle: Jeweils gültige gesetzlichen Bestimmungen oder Akkreditierungsanforderungen sind bei der Festlegung der Intervalle zur Durchführung der Qualitätskontrollen zu berücksichtigen.

Kontrollen oder Seren mit freiem T3 in zumindest zwei Konzentrationen (niedrige und hohe) verwenden.

Siemens Healthcare Diagnostics empfiehlt die Verwendung von kommerziell verfügbaren Qualitätskontrollen in mindestens 2 Konzentrationen (niedrig und hoch). Der Systembetrieb gilt dann als zufriedenstellend, wenn die Analytwerte innerhalb des für das System zulässigen Kontrollbereichs oder des für die laborinternen Qualitätskontrollverfahren festgelegten zulässigen Bereichs liegen.

Referenzwerte

Erwachsene: In einer Studie des Herstellers mit 212 gesunden Probanden, wurde mit dem IMMULITE 2000 Freies T3 folgende Referenzwerte ermittelt: 1,8–4,2 pg/ml für euthyreote Erwachsene.

Kinder: Die pädiatrischen Referenzbereiche (Kinder und Jugendliche) wurden in Übereinstimmung mit der CLSI-Richtlinie EP28-A3C für den IMMULITE Freies T3-Test festgelegt.[30]

Für die Datenanalyse wurde die Population nach Alter in drei Untergruppen eingeteilt:

- Kleinkinder: Probanden im Alter von 1–23 Monaten
- Kinder: Probanden im Alter von 2–12 Jahren
- Jugendliche: Probanden im Alter von 13–20 Jahren

Die Referenzbereiche für Kinder und Jugendliche wurden mit Hilfe einer nonparametrischen Methode ermittelt, wobei die 2,5. und 97,5. Perzentilen der Werteverteilung berechnet wurden. In der Kleinkinderpopulation wurde zur Berücksichtigung der geringeren Probenanzahl der Stichprobe eine robuste, von Horn und Pesce entwickelte Methode zur Ermittlung des Referentintervalls und der 2,5. und 97,5. Perzentilen verwendet.[30–32]

Die nach Altersgruppe und Anzahl der Proben aufgeschlüsselten Referenzbereiche sind in der Tabelle „Referenzbereiche“ dargestellt.

Pädiatrische Referenzbereiche für IMMULITE 2000 Freies T3

Altersgruppe	*n*	Konventionell (pg/ml)	SI (pmol/l)
Kleinkinder (1–23 Monate)	81	3,6–7,5	5,5–11,5
Kinder (2–12 Jahre)	195	3,7–6,6	5,7–10,1
Jugendliche (13–20 Jahre)	148	3,1–5,9	4,8–9,1

Betrachten Sie diese Grenzwerte nur als *Richtlinien*. Jedes Labor sollte eigene Referenzbereiche ermitteln.

Grenzen der Methode

Der Assay zur Bestimmung der freien T3-Konzentration ist ein Bestätigungstest der Hyperthyreose und hat nur eine eingeschränkte Aussagekraft im Zusammenhang mit der Hypothyreose. Es ist davon auszugehen, daß es Überschneidungen zwischen euthyreotem und hyperthyreoten Bereichen gibt.

Die Interpretation der Freien T3 Ergebnisse wird durch eine Vielzahl von Medikamenten erschwert, die die T3-Bindung an die entsprechenden Bindeproteine beeinflussen.

Besonders schwierig ist die Untersuchung der Schilddrüsenfunktion bei nicht thyreoidalen Erkrankungen. Einige Patienten mit diesem Krankheitsbild leiden unter einer begleitenden primären Hypothyreose oder einer kompensatorischen sekundären Hypothyreose.

In seltenen Fällen starker Variation der Albuminbindungskapazität, wie familiärer dysalbuminämischer Hyperthyroxinämie, werden fehlerhafte Bestimmungen der freien Hormone beobachtet.

Zirkulierende T3-Autoantikörper und Inhibitoren für Hormonbindung können mit dem Assay interferieren.[2,3,12]

Es wurde gezeigt, daß Heparin *in vitro* wie auch *in vivo* einen Einfluß auf freie Schilddrüsenhormone hat.[8] Aus diesem Grund sollten während oder kurz nach Heparin-Gabe keine Proben entnommen werden.

Da eine Verdünnung das Gleichgewicht zwischen freiem und gebundenem T3 beeinflußt, wird keine Verdünnungslinearität gefunden. Aus diesem Grund sollten die Proben mit hohen freien T3-Konzentrationen nicht verdünnt werden. Die Ergebnisse oberhalb des Meßbereichs sollten als solche angegeben werden.

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 pg/ml ausgedrückt. (Alle Daten wurden — sofern nicht anders angegeben — aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Umrechnungsfaktor:
pg/ml × 1,536 → pmol/l

Messbereich: 1,0–40 pg/ml
(1,5–61 pmol/l)

Die Methode ist rückführbar auf einen internen Standard, der mittels qualifizierter Materialien und Messmethoden hergestellt wurde.

Analytische Sensitivität: 1,0 pg/ml
(1,5 pmol/l)

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Testansätzen in Doppelbestimmung gemessen (insgesamt 40 Bestimmungen und 80 Einzelmessungen). (Siehe Tabelle "Precision".)

Spezifität: Der Assay ist hochspezifisch für freies T3. (Siehe Tabelle "Specificity".)

Effekt von TBG: Der Null-Kalibrator wurde mit einem T3 freien TBG-Resin (20, 40 und 80 µg/ml) versehen und gemessen. Die Ergebnisse zeigten keine Interferenz. (Siehe Tabelle "Effect of TBG".)

Effekt von Albumin: Proben gespiked mit humanem Albumin (10, 20 und 50 mg/ml), wurden untersucht.
(Siehe Tablelle "Effect of Albumin".)

Effekt nicht veresterter Fettsäuren (NEFA): Proben wurden nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Ölsäure (2,5 und 5,0 mmol/l) bestimmt. Bis zu einer Konzentration von 2,5 mmol/l wurde kein signifikanter Einfluß beobachtet, während höhere Konzentrationen zu niedrigeren fT3-Werten führten. (Siehe Tabelle "Effect of Nonesterified Fatty Acids". Erhöhte NEFA-Konzentrationen sind in der Schwangerschaft und unter Heparin-Gabe möglich.)

Sonstige Verbindungen: Untersuchung von Proben nach Zugabe von Phenylbutazon (10, 100 und 1000 µg/dl), oder Phenytoin (5, 10, 25 und 50 µg/ml), oder Salizylat (10, 25, 50 und 100 mg/dl), zeigten keinen Einfluß dieser Verbindungen. (Siehe Tabellen "Effect of Phenylbutazone", "Effect of Phenytoin" und "Effect of Salicylate".)

Bilirubin: Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Biotin: Proben, die Biotin in einer Konzentration von 1500 ng/ml enthalten, zeigen eine Veränderung der Ergebnisse von kleiner oder gleich 10 %. Größere Biotin-Konzentrationen als diese können zu falschen Ergebnissen bei Patientenproben führen.

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 384 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: hoch lipämische Proben können mit dem Assay interferieren (siehe Tabelle "Lipämie").

Methodenvergleich: Der Assay wurde auf der Basis von 105 Patientenproben mit dem IMMULITE Freies T3 Assay verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 1 bis 14 pg/ml. Siehe Grafik.)
Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 1,05 (IML) + 0,41 pg/ml
r = 0,977

Mittelwert:
3,5 pg/ml (IMMULITE 2000)
3,0 pg/ml (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

IMMULITE 2000 T3 Libre

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro*, usado con los analizadores IMMULITE® 2000 — para la medición cuantitativa de T3 libre en suero. Las mediciones de T3 libre se utilizan como ayuda en el diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad tiroidea.

Números de Catálogo:
L2KF32 (200 tests)
L2KF36 (600 tests)

Código del Test: **FT3** Color: **Agua**

Resumen y Explicación del Test

Bajo condiciones fisiológicas normales la triiodotironina (T3) representa aproximadamente el 5 porciento de las hormonas tiroideas en plasma. Aunque presente en menor concentración que la tiroxina (T4), la T3 tiene una mayor actividad metabólica, un turnover más rápido y una distribución más amplia. Se produce mayoritariamente como resultado de la conversión extratiroidea de la T4. Como ella, circula unida casi en su totalidad a proteinas transportadoras TBG, pre-albumina y albumina. La T3 Libre constituye sólo el 0,25% de la T3 total en circulación.

La determinación de T3 total por inmunoensayo tiene una amplio número de usuarios. En presencia de T4 total o libre elevada, la determinación de T3 total ayuda a confrimar el diagnóstico de hipertiroidismo. Una elevación anormal de T3 total puede darse incluso cuando la concentración de T4 total es normal — una condición conocida como "toxicosisT3".

En la mayoría de los casos, los niveles de T3 libre están estrechamente correlacionados con los niveles de T3 total. La T3 total, no obstante, no sólo depende del estado tiroideo y de la conversión periférica de T4 a T3, sino incluso de la concentración de las proteinas transportadoras de hormonas tiroideas. La T3 libre, por otro lado, no se ve afectada por las variaciones en esas proteinas transportadoras. Así, las elevaciones típicas de TBG durante el embarazo, utilización de anticonceptivos orales y terapia con estrógenos tienen un efecto al alza en los niveles de T3 total mientras que la concentración de T3 libre se mantiene prácticamente invariable.

La concentración de T3 libre refleja el estado tiroideo actual de un paciente de una manera más real que la concentración de T3 total.

Principio del análisis

Inmunoensayo competitivo basado en un análogo[25,26].

Ciclos de incubación: 2 × 30 minutos

Recogida de la muestra

Debido a que el EDTA puede afectar a los resultados, no debe usarse como anticoagulante.

Las muestras lipémicas o ampliamente contaminadas pueden dar resultados erróneos. 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 centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El T3 Libre IMMULITE 2000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos.

Volumen Requerido: 100 µl de suero

Conservación: 2 días a 2–8°C, o 2 meses a –20°C.

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.



¡PRECAUCIÓN! RIESGO BIOLÓGICO POTENCIAL
Contiene material de origen humano. Cada donación de sangre humana o componente sanguíneo ha sido probada por métodos aprobados por la FDA con el fin de detectar la presencia de anticuerpos de los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2), así como el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y el anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (VHC). Los resultados de estas pruebas fueron negativos (no repetidamente reactivos). Ninguna prueba ofrece total garantía de que en las muestras no haya estos agentes infecciosos u otros; por tanto, este material se deberá manipular conforme a las prácticas recomendables de laboratorio y las precauciones universales[27-29].

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.

H412	Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.
P273, P501	Evitar su liberación al medio ambiente. Eliminar el contenido y el recipiente de acuerdo con las normativas locales, regionales y nacionales.
	Contiene: azida de sodio; Ajustadores de T3 Libre

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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las canerias de cobre y plomo.

Substrato quimioluminiscente: Evitar la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

Agua: Usar agua destilada o desionizada.

Materiales Suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

Cartucho de bolas de T3 Libre (L2F312)
Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpo monoclonal murino anti-T3. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KF32: 1 cartucho
L2KF36: 3 cartuchos

Vial de reactivo de T3 Libre (L2F3A2)
Con códigos de barras, contiene tres reactivos líquidos, 10,5 ml, 10,5 ml y 11,5 ml respectivamente, listos para su uso. El primer y segundo reactivo consiste en un análogo de T3 marcado con ligando en solución tamponada, con conservantes. El terecer reactivo consiste fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con anti-ligando en solución tamponada, con conservantes. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KF32: 1 vial
L2KF36: 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 T3 Libre (LF3L, LF3H)
Dos viales (bajo y alto) de T3 libre liofilizada en en suero humano procesado, con conservante. Reconstituir cada vial, añadiendo **4,0 ml** de agua destilada o desionizada. Estable a 2–8°C durante 30 días después de la reconstitución, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KF32: 1 juego
L2KF36: 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: Substrato 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; controles

Ensayo

Aviso: para obtener un funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:
2 semanas

Muestras de Control de Calidad: Seguir las reglamentaciones gubernamentales o los requisitos de acreditación para conocer la frecuencia de control de calidad.

Utilizar controles o pooles de sueros con al menos dos niveles diferentes de T3 libre (bajo y alto).

Siemens Healthcare Diagnostics recomienda el uso de materiales de control de calidad comercializados con al menos 2 niveles (bajo y alto). Un nivel de funcionamiento satisfactorio se consigue cuando los valores obtenidos del analito están dentro del rango de control aceptable para el sistema, o dentro del rango establecido determinado por un programa adecuado de control de calidad interno de laboratorio.

Valores Esperados

Adultos: Un estudio de valores normales de T3 libre en el IMMULITE 2000, llevado a cabo en 212 adultos, aparentemente sanos, dió como resultado un intervalo de normalidad dell 95% los valores comprendidos entre 1,8–4,2 pg/ml para adultos eutiroideos.

Niños: Los intervalos de referencia de la población pediátrica (niños y adolescentes) para el ensayo IMMULITE T3 Libre se establecieron de acuerdo con el documento EP28-A3C del CLSI[30].

La población se dividió en tres subgrupos de edad para analizar los datos:

- Lactantes: sujetos de 1–23 meses de edad
- Niños: sujetos de 2–12 años de edad
- Adolescentes: sujetos de 13–20 años de edad

Se usó un abordaje no paramétrico para establecer los intervalos de referencia para niños y adolescentes, de los que se calcularon los percentiles 2,5 y 97,5 de distribución de los valores. Para la población de lactantes, Horn y Pesce desarrollaron una medida sólida de localización y expansión que se utilizó para calcular los intervalos de referencia de los percentiles 2,5 y 97,5, lo que permite incluir el tamaño de muestra más pequeño[30–32].

Los intervalos de referencia detallados por grupo de edad y número de muestras se presentan en la tabla Intervalos de referencia.

Intervalos de referencia de IMMULITE 2000 T3 Libre para la población pediátrica

Grupo de edad	*n*	Convencional (pg/ml)	SI (pmol/l)
Lactantes (1–23 meses)	81	3,6–7,5	5,5–11,5
Niños (2–12 años)	195	3,7–6,6	5,7–10,1
Adolescentes (13–20 años)	148	3,1–5,9	4,8–9,1

Estos límites han de considerarse sólo como una *guía*. Cada Laboratorio deberá establecer sus propios rangos de referencia.

Limitaciones

El ensayo de T3 libre sirve principalmente para verificar la presencia de hipertiroidismo, y tiene un valor muy limitado para el hipotiroidismo. Puede haber algo de superposición entre los rangos eutiroideos e hipertiroideos.

La interpretación de los resultados de T3 libre se ve complicada por una variedad de drogas que pueden afectar la unión de la T3 a las proteínas transportadoras de la hormona tiroidea.

En varias enfermedades no tiroideas, la evaluación del estado tiroideo se hace especialmente difícil. Debido a que algunos pacientes que pertenecen a esta categoría pueden sufrir un hipotiroidismo primario concomitante o un hipotiroidismo secundario compensatorio, en este contexto se ha recomendado el inmunoensayo de TSH como un test de verificación.

En algunas condiciones raras, asociadas con variaciones extremas en la capacidad de unión de la albúmina – como la hipertiroxinemia disalbuminémica familiar (FDH) – los ensayos directos de la hormona tiroidea libre pueden dar resultados engañosos.

Los anticuerpos circulantes contra T3 y los inhibidores de la unión de la hormona pueden interferir con el ensayo[2,3,12].

Se ha determinado que la heparina tiene efectos sobre las hormonas tiroideas libres tanto *in vivo* como *in vitro*[8]. Por ello, no se deberán obtener muestras durante la administración de este anticoagulante o inmediatamente después de la misma.

Debido a que la dilución altera el equilibrio entre la T3 libre y la T3 unida a proteínas, no se puede esperar que el ensayo mantenga la linealidad durante la dilución. Consiguientemente, no se deberá intentar diluir las muestras que den resultados altos de T3 libre. En particular, cualquier muestra que dé un resultado mayor al límite superior del rango de calibración del ensayo deberá informarse como tal.

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis *in vitro*. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasione un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia, no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

Características Analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo ver las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en pg/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:
pg/ml × 1,536 → pmol/l

Rango de Calibración: 1,0–40 pg/ml (1,5–61 pmol/l)

El ensayo es trazable a un estándar interno fabricado usando procedimientos de medida y materiales cualificados.

Sensibilidad: 1,0 pg/ml (1,5 pmol/l)

Precisión: Las muestras fueron analizadas por duplicado durante 20 días, en dos tandas de trabajo por día, para un total de 40 tandas y 80 replicados. (Ver la tabla de “Precision”.)

Especificidad: El ensayo es altamente específico para T3 libre. (Ver la tabla de “Specificity”.)

Efecto de la TBG: El calibrador a cero del ensayo fue sobrecargado con una resina a la cual se le ha quitado la T3 (20, 40 y 80 µg/ml) y analizado. Los resultados de la TBG no mostraron ninguna interferencia. (Ver la tabla de “Effect of TBG”.)

Efecto de la albúmina: Se ensayaron muestras sobrecargadas con albúmina de suero humano absorbida en carbón (10, 20 y 50 mg/ml). (Ver la tabla de “Effect of Albumin”.)

Efecto de los ácidos grasos no esterificados (NEFA): Se ensayaron muestras sobrecargadas con ácido oleico (2,5 y 5,0 mmol/l). Los resultados no muestran un efecto significativo a la concentración de 2,5 mmol/l, pero sí muestran valores menores a niveles mayores. (Ver la tabla de “Effect of Nonesterified Fatty Acids”. Pueden encontrarse niveles aumentados de NEFA en el embarazo y en el tratamiento con heparina.)

Otros compuestos: Los resultados de las muestras ensayadas después de sobrecargarlas con fenilbutazona (10, 100 y 1000 µg/dl), con fenitoína (5, 10, 25 y 50 µg/ml) o con salicilato (10, 25, 50 y 100 mg/dl) no mostraron ningún efecto de estos compuestos. (Ver las tablas de “Effect of Phenylbutazone”, “Effect of Phenytoin” y “Effect of Salicylate”.)

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina, en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Biotina: Las muestras que contienen biotina en una concentración de 1500 ng/ml han demostrado un cambio igual o inferior al 10% en los resultados. Una concentración de biotina superior a esta puede producir resultados incorrectos para las muestras del paciente.

Hemolisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 384 mg/dl,no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Lipemia: Las muestras altamente lipémicas pueden interferir con el ensayo. (Ver la tabla de “Lipemia”.)

Comparación del Método: El ensayo fue comparado con el IMMULITE T3 Libre en 105 muestras de pacientes. (Rango de Concentración: aproximadamente 1 a 14 pg/ml. Ver el gráfico.)
Por regresión linear:

(IML 2000) = 1,05 (IML) + 0,41 pg/ml
r = 0,977

Medias:
3,5 pg/ml (IMMULITE 2000)
3,0 pg/ml (IMMULITE)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

IMMULITE 2000 T3 libre

Domaine d'utilisation : Pour utilisation diagnostique *in vitro* avec les systèmes IMMULITE® 2000 — pour la détermination quantitative de la T3 libre dans le sérum. Le dosage de la T3 libre est utilisé dans le diagnostic et le traitement des maladies thyroïdiennes.

Référence catalogue :
L2KF32 (200 tests)
L2KF36 (600 tests)

Code produit : **FT3**
Code couleur : **bleu vert**

Introduction

Dans les conditions physiologiques normales, la T3 représente approximativement 5% des hormones thyroïdiennes dans le plasma. Bien que présente en très faible quantité comparativement à la T4, la T3 a une plus grande activité métabolique, un renouvellement plus rapide et un plus grand volume de distribution. La T3 est produite en grande quantité par la conversion de la T4 en dehors de la glande thyroïde. Comme pour la T4, elle circule presque entièrement liée à des protéines de transport, la TBG, la pré-albumine et l'albumine. La T3 libre constitue seulement 0,25% de la T3 totale circulante.

La détermination de la T3 totale par immunoanalyse a des indications bien établies. En présence d'une élévation de T4 totale ou de T4 libre, le dosage de la T3 aide à confirmer le diagnostic d'hyperthyroïdie. Une augmentation anormale de T3 peut également se voir alors que la T4 est normale en cas de « T3 toxicose ».

Dans la plupart des cas, les taux de T3 libre sont parfaitement corrélés aux taux de T3 totale. Cependant les taux de T3 totale ne dépendent pas seulement de l'état thyroïdien et de la conversion périphérique de la T4 en T3, mais aussi de la concentration des protéines porteuses. D'autre part, la T3 libre est peu affectée par les variations de ces protéines porteuses. Ainsi, l'élévation typique de la TBG au cours de la grossesse, de la prise de contraceptifs oraux ou d'estrogénothérapie, entraîne une augmentation de la T3 totale, mais ne modifie pas la concentration basale de T3 libre.

La concentration de T3 libre reflète de façon beaucoup plus fiable le statut thyroïdien actuel du patient que la T3 totale.

Principe du test

Immunodosage compétitif sur un principe analogue.[25,26]

Cycles d'incubation : 2 × 30 minutes

Recueil des échantillons

Il est recommandé de ne pas utiliser l'EDTA comme anticoagulant car cela pourrait altérer les résultats.

Des échantillons lipémiques ou fortement contaminés peuvent donner des résultats erronés. 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 dûs 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 T3 Libre IMMULITE 2000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles.

Volume nécessaire : 100 µl de sérum

Conservation : 2 jours à 2–8°C ou 2 mois à –20°C.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL
Contient du matériel d'origine humaine. Chaque don de sang ou de composant sanguin humain a été testé selon des méthodes homologuées par la FDA afin de détecter la présence d'anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2), ainsi que la présence d'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) et d'anticorps anti-virus de l'hépatite C (VHC). Les résultats de ces tests se sont révélés négatifs (ou positifs mais de façon non répétable). Aucun test ne peut garantir totalement l'absence d'agents infectieux tels que ceux-ci ou d'autres. Par conséquent, ce matériel doit être manipulé conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux précautions universelles.[27-29]

ATTENTION : Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.

H412 **P273, P501**	Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. Éviter le rejet dans l'environnement. Éliminer les contenus et les contenants conformément à toutes les réglementations locales, régionales et nationales. **Contient :** azide de sodium ; Ajusteurs T3 Libre

Réactifs : conserver les réactifs à 2–8°C. Eliminer les déchets conformément à la réglementation en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-HCV et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

Substrat chimiluminescent : éviter la contamination et l'exposition directe au soleil. (Voir notice.)

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 T3 Libre (L2F312)
Avec code-barres. 200 billes revêtues d'un anticorps monoclonal murin anti-T3. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KF32 : 1 cartouche
L2KF36 : 3 cartouches

Cartouche à réactif T3 Libre (L2F3A2)
Avec code-barres, contient trois réactifs liquides, de respectivement 10,5 ml, 10,5 ml et 11,5 ml, prêts à l'emploi. Les premier et second réactifs consistent en un analogue de la T3 marqué par un

ligand dans un tampon, avec conservateur. Le troisième réactif est de la phosphatase alcaline (intestins de veaux) conjuguée à un anti ligand dans un tampon, avec conservateur. Stable à 2–8°C jusqu'à la date d'expiration.
L2KF32 : 1 cartouche
L2KF36 : 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 T3 Libre (LF3L, LF3H)
2 flacons d'ajusteurs (« haut » et « bas ») lyophilisés contenant de la T3 libre dans un sérum humain prétraité, avec conservateur. Reconstituer chaque flacon avec **4,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Stable 30 jours après reconstitution à 2–8°C ou 6 mois (aliquotés) à –20°C.
L2KF32 : 1 jeu
L2KF36 : 2 jeux

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes 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 en verre ; contrôles

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000.

Voir le Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000 pour la préparation, le démarrage du système, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé :
2 semaines

Echantillons pour le contrôle de qualité :
Suivre les réglementations gouvernementales et les exigences relatives aux accréditations en matière de fréquence de contrôle qualité.

Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) de T3 libre.

Siemens Healthcare Diagnostics recommande d'utiliser des échantillons de contrôle de qualité en vente dans le commerce et comprenant au moins 2 niveaux (bas et haut). Un niveau de performance satisfaisant est atteint lorsque les valeurs d'analyte obtenues se situent dans l'intervalle de contrôle acceptable du système ou dans un intervalle déterminé par un schéma de contrôle de qualité approprié interne au laboratoire.

Valeurs attendues

Échantillons adultes : Une étude sur les valeurs de référence pour le test IMMULITE 2000 T3 libre a été réalisée sur 212 adultes apparemment en bonne santé et a donné un domaine centré a 95% de 1,8–4,2 pg/ml pour adultes euthyroïdiques.

Échantillons pédiatriques : Les intervalles de référence pour la population pédiatrique (enfants et adolescents) ont été établis pour le dosage IMMULITE T3 libre, conformément à la directive EP28-A3C du CLSI.[30]

Pour l'analyse des données, la population a été divisée en trois sous-groupes d'âges :

- Nourrissons : sujets de 1–23 mois
- Enfants : sujets de 2–12 ans
- Adolescents : sujets de 13–20 ans

Une approche non paramétrique a été utilisée afin d'établir les intervalles de référence pour les enfants et les adolescents pour lesquels les 2,5ème et 97,5ème percentiles de la distribution des

valeurs ont été calculés. Comme la taille d'échantillon de la population des nourrissons est plus réduite, il a été utilisé une mesure robuste de la position et de la dispersion, telle qu'elle a été développée par Horn et Pesce, pour établir les intervalles de référence des 2,5ème et 97,5ème percentiles.[30–32]

Les intervalles de référence détaillés par groupe d'âge et nombre d'échantillons sont indiqués dans le tableau des Intervalles de référence.

Intervalles de référence pédiatrique d'IMMULITE 2000 T3 libre

Groupe d'âge	*n*	Conventionnel (pg/ml)	SI (pmol/l)
Nourrissons (1–23 mois)	81	3,6–7,5	5,5–11,5
Enfants (2–12 ans)	195	3,7–6,6	5,7–10,1
Adolescents (13–20 ans)	148	3,1–5,9	4,8–9,1

Utiliser ces valeurs *à titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

Limites

Le test de T3 libre sert principalement à confirmer l'hyperthyroïdie et possède une valeur très limitée dans un contexte d'hypothyroïdie. Il peut y avoir des chevauchements entre les domaines de mesure de l'euthyroïdie et de l'hyperthyroïdie.

L'interprétation des résultats de la T3 libre est compliquée du fait de la variété de médicaments pouvant affecter la liaison entre la T3 et les protéines véhiculant l'hormone thyroïdienne.

L'évaluation de la condition de la thyroïde s'avère particulièrement difficile dans le cas de maladies non thyroïdiennes graves. Étant donné que certains patients appartenant à cette catégorie peuvent souffrir d'hypothyroïdie primaire concomitante, il est recommandé alors de pratiquer un dosage de TSH pour confirmation.

Dans certaines maladies rares associées à des variations extrêmes de la capacité de liaison de l'albumine — telles que l'hyperthyroxinémie dysalbuminémique familiale (HDF) — un dosage direct de la T3 libre peut donner des résultats erronés.

Les auto-anticorps dirigés contre la T3 circulante et les inhibiteurs de liaison avec cette hormone peuvent interférer avec le test.[2,3,12]

On a signalé également que l'héparine réagissait à la fois *in vivo* et *in vitro* sur les hormones thyroïdiennes libres.[8] Il convient donc de ne pas prélever d'échantillons pendant ou aussitôt après l'administration de cet anticoagulant.

Étant donné que la dilution perturbe l'équilibre entre la T3 libre et la T3 liée à des protéines, on ne peut espérer que le test garde sa linéarité lors de la dilution. En conséquence, il faut s'abstenir de diluer les échantillons lorsque les résultats de la T3 sont élevés. En l'occurrence, si un échantillon donne un résultat supérieur à la limite maximum du domaine de mesure du test, il doit être simplement reporté tel quel.

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec les immunodosages *in vitro*. [Voir Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34:27-33.] Les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre des sérums rares et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en pg/ml. (En l'absence de précision supplémentaire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques prélevés sur tubes sans anticoagulant, ni gel, ni activateur de la coagulation.)

Facteur de conversion :
pg/ml × 1,536 → pmol/l

Domaine de mesure : 1,0–40 pg/ml (1,5–61 pmol/l)

Le dosage peut être retracé à un standard interne, manufacturé à l'aide de matériaux et procédures de mensuration qualifiées.

Sensibilité analytique : 1,0 pg/ml (1,5 pmol/l)

Précision : les valeurs ont été établies à partir de doublets dosés dans deux séries différentes chaque jour pendant 20 jours soit au total 40 séries et 80 doublets. (Voir le tableau « Precision ».)

Spécificité : le test est hautement spécifique de la T3 libre. (Voir le tableau « Specificity ».)

Effets de la TBG : de la TBG purifiée de toute T3 apparente a été ajoutée au calibrateur à zéro (20, 40 et 80 µg/ml) puis testée. Les résultats de la TBG n'ont montré aucune interférence. (Voir tableau « Effect of TBG ».)

Effets de l'albumine : De la sérum albumine humaine à été ajoutée aux échantillons testés (10, 20 et 50 mg/ml). (Voir tableau « Effect of Albumin ».)

Effets des acides gras non estérifiés (AGNE) : De l'acide oléique a été ajouté aux échantillons testés (2,5 et 5,0 mmol/l). Les résultats n'ont indiqué aucun effet significatif à 2,5 mmol/l, mais une diminution des valeurs au niveau le plus haut. (Voir tableau « Effect of Nonesterified Fatty Acids ». Le taux des AGNE peut être plus élevé au cours de la grossesse ou lors d'un traitement à l'héparine.)

Autres composés : les résultats des échantillons testés après ajout de phénylbutazone (10, 100 and 1000 µg/dl), ou phénytoïne (5, 10, 25, and 50 µg/ml), ou salicylate (10, 25, 50 and 100 mg/dl) n'ont indiqué aucun effet pour ces composés. (Voir tableaux « Effect of Phenylbutazone », « Effect of Phenytoin » et « Effect of Salicylate ».)

Bilirubine : La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

Biotine : Les échantillons contenant de la biotine à une concentration de 1500 ng/ml présentent un changement de résultats inférieur ou égal à 10 %. Des concentrations de biotine supérieures à cette valeur peuvent entraîner des résultats d'échantillons patients erronés.

Hémolyse : La présence d'hémoglobine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 384 mg/dl.

Effets de la lipémie : Des échantillons fortement lipémiques peuvent interférer sur le test. (Voir tableau « Lipemia ».)

Comparaison de méthode : le test a été comparé au test IMMULITE T3 libre sur 105 échantillons de patients (dont les concentrations allaient d'environ 1 à 14 pg/ml. Voir graphique.)
Par régression linéaire :

(IML 2000) = 1,05 (IML) + 0,41 pg/ml
r = 0,977

Moyennes :
3,5 pg/ml (IMMULITE 2000)
3,0 pg/ml (IMMULITE)

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

Le Système Qualité de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. est certifié ISO 13485.

Italiano

IMMULITE 2000 T3 libera

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE® 2000 per la misurazione quantitativa della T3 libera nel siero. Le misurazioni della T3 libera vengono utilizzate per la diagnosi e il trattamento delle patologie tiroidee.

Numero di Codice:
L2KF32 (200 test)
L2KF36 (600 test)

Codice del Test: **FT3** Colore: **acqua**

Riassunto e spiegazione del Test

In condizioni fisiologiche normali la triiodotironina (T3) rappresenta circa il 5%

degli ormoni tiroidei nel plasma. Benchè presente in concentrazioni più basse della tiroxina (T4), la T3 ha un'attività metabolica più elevata, un turnover più veloce ed una distribuzione più ampia. Viene prodotta in massima parte attraverso la conversione extratiroidea della T4. Come la T4, circola quasi completamente legata alle proteine carrier della TBG, pre-albumina ed albumina. La T3 libera costituisce solo circa lo 0,25% della T3 totale in circolo.

La misurazione della T3 totale attraverso immunodosaggio conta un numero ben preciso di utilizzi. In presenza di T4 libera o totale elevata, i dosaggi della T3 aiutano a confermare una diagnosi di ipertiroidismo. Aumenti anomali di T3 totale possono verificarsi anche quando la concentrazione di T4 totale è normale – una condizione conosciuta come "T3 tossicosi".

Nella maggior parte dei casi, i livelli di T3 libera correlano strettamente con i livelli di T3 totale. La T3 totale, tuttavia, dipende non solo dallo stato tiroideo e dalla conversione periferica della T4 in T3, ma anche dalla concentrazione delle proteine leganti l'ormone tiroideo. La T3 libera, d'altra parte, non viene influenzata dalle variazioni di questi carrier. Quindi, gli innalzamenti della TBG tipici della gravidanza, dell'uso di contraccettivi orali, e della terapia estrogenica comportano un innalzamento dei livelli di T3 totale, mentre lasciano immutate le concentrazioni di T3 libera.

La concentrazione di T3 libera riflette tipicamente lo stato tiroideo presente nel paziente in maniera più affidabile di quanto non avvenga per la concentrazione di T3 totale.

Principio del procedimento

Immunodosaggio competitivo a base analogica.[25,26]

Cicli d'incubazione: 2 × 30 minuti

Raccolta del Campione

Poiché L'EDTA altera i risultati, non deve essere utilizzato come anticoagulante.

I campioni lipemici o grossolamente contaminati possono produrre risultati errati. Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

I campioni emolizzati posson 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 T3 libera non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette.

Volume richiesto: 100 µL di siero

Conservazione: 2 giorni a 2–8°C o 2 mesi a –20°C.

Avvertenze e Precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

ATTENZIONE! POTENZIALE PERICOLO BIOLOGICO
Contiene materiale di origine umana. Ciascuna donazione di sangue o componenti ematici umani è stata testata con metodi approvati dalla FDA per rilevare la presenza di anticorpi al virus dell'immunodeficienza umana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2), nonché per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e gli anticorpi al virus dell'epatite C (HCV). I risultati del test sono stati negativi (non ripetutamente reattivi). Nessun test offre assicurazione completa che questi o altri agenti infettivi siano assenti; questo materiale va trattato utilizzando le corrette prassi di laboratorio e le precauzioni universali.[27-29]

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale

portatore e trasmettitore di agenti patogeni.

H412	Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.
P273, P501	Non disperdere nell'ambiente. Smaltire il prodotto e il contenitore in conformità con tutte le disposizioni locali, regionali e nazionali. **Contiene:** sodio azide; Calibratori T3 libera

Reagenti: Conservare i reagenti a 2–8°C. Eliminare in conformità alle leggi pertinenti.

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati dal sangue umano sono stati testati con esito negativo per la sifilide, gli anticorpi anti-HIV 1 e 2, l'antigene di superficie dell'Epatite B e gli anticorpi dell'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 unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

Contenitore di Sferette T3 libera (L2F312)
Con codice a barre. 200 biglie coattate con monoclonale di ratto anti-T3. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KF32: 1 confezione
L2KF36: 3 confezioni

Porta Reagente T3 libera (L2F3A2)
Con codice a barre, contenente tre reagenti liquidi, pronti all'uso, rispettivamente di 10,5 mL, 10,5 mL ed 11,5 mL. Il primo ed il secondo reagente sono costituiti da analogo della T3 marcata con ligando in un tampone, con conservanti. Il terzo reagente è costituito da fosfatasi alcalina (intestino bovino) coniugato con anti-ligando in un tampone, con conservanti. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KF32: 1 Porta Reagente
L2KF36: 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.

Calibratori T3 libera (LF3L, LF3H)
2 flaconi (Basso ed Alto), ciascuno con T3 libera liofila in siero umano processato, con conservanti. Ricostistuire ogni flacone con **4,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo la ricostituzione a –20°C per 6 mesi (aliquotato).
L2KF32: 1 set
L2KF36: 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.

I componenti dei kit sono 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; controlli

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per preparazione, messa a punto, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 2 settimane

Controllo di Qualità: Per la frequenza del controllo di qualità seguire le normative in vigore o i requisiti di accreditamento.

Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (alto e basso) di T3 libera.

Siemens Healthcare Diagnostics consiglia l'utilizzo di materiali di controllo della qualità disponibili in commercio con almeno 2 livelli (bassi e alti). Un livello soddisfacente di prestazioni si raggiunge quando i valori dell'analita ottenuti rientrano nei range di accettabilità del Controllo per il sistema o nei range stabiliti all'interno del laboratorio attraverso un programma appropriato di valutazione del controllo di qualità.

Valori Attesi

Popolazione adulta: E' stato effettuato uno studio su 212 donatori sul range di riferimento per la T3 libera IMMULITE 2000. Dallo studio è risultato un valore medio al 95°percentile di 1,8–4,2 pg/mL per pazienti eutiroidei adulti.

Popolazione pediatrica: Sono stati stabiliti gli intervalli di riferimento per la popolazione pediatrica (bambini e adolescenti) per il dosaggio IMMULITE T3 libera in conformità alle linee guida CLSI EP28-A3C.[30]

Per l'analisi dei dati, la popolazione è stata divisa in tre sottogruppi in base all'età:

- Neonati: pazienti con età 1−23 mesi
- Bambini: pazienti con età 2−12 anni
- Adolescenti: pazienti con età 13−20 anni

È stato utilizzo un approccio non parametrico per stabilire gli intervalli di riferimento per bambini e adolescenti quando sono stati calcolati i percentili 2,5 e 97,5 della distribuzione dei valori. Per la popolazione infantile, è stata utilizzata una misura robusta della posizione e della diffusione sviluppata da Horn e Pesce per la stima degli intervalli di riferimento dei percentili 2,5 e 97,5, con il ridimensionamento del campione più piccolo.[30–32]

Gli intervalli di riferimento forniti in dettaglio in base ai gruppi di età e numeri di campioni possono essere osservati nella tabella Intervalli di riferimento.

Intervalli di riferimento pediatrici di IMMULITE 2000 T3 libera

Gruppo di età	*n*	Convenzionale (pg/mL)	SI (pmol/L)
Neonati (1–23 mesi)	81	3,6–7,5	5,5–11,5
Bambini (2–12 anni)	195	3,7–6,6	5,7–10,1
Adolescenti (13–20 anni)	148	3,1–5,9	4,8–9,1

Detti valori dovrebbero essere considerati solo come *suggerimento*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

Limiti

L'analisi della T3 libera serve principalmente come esame di conferma per l'ipertiroidismo, ma è di valore molto limitato nell'ambito dell'ipotiroidismo stesso. Si potrebbero presentare delle sovrapposizioni di range di valori fra pazienti eutiroidei ed ipertiroidei.

L'interpretazione dei risultati relativi alla T3 libera è resa più difficile da una varietà di farmaci che possono influenzare il legame della T3 alle proteine che trasportano l'ormone tiroideo.

In gravi malattie non tiroidee, la diagnosi dello stato tiroideo diventa particolarmente difficile. Poichè pazienti di questa categoria potrebbero soffrire di ipotiroidismo concomitante primario o di un ipotiroidismo compensatore secondario, si suggerisce di procedere con una immuno-analisi, come esame di conferma in tale contesto.

In condizioni rare, abbinate a eccessive variazioni nella capacità legante dell'albumina – quali l'ipertiroxinemia disalbuminica familiare (FDH) – i dosaggi diretti dell'ormone tiroideo libero potrebbero dare risultati erronei.

La circolazione di autoanticorpi anti T3 e la presenza di inibitori della capacità legante ormonale, potrebbero interferire nel dosaggio.[2,3,12]

E' stato notato che l'Eparina, sia *in vivo* che *in vitro* influisce sugli ormoni tiroidei liberi.[8] Pertanto, non si dovrebbero prelevare campioni durante o subito dopo la somministrazione di tale anticoagulante.

Poichè la diluizione sposta l'equilibrio tra la T3 libera e la T3 legata, ci si attende che la linearità non venga mantenuta durante il processo di diluizione. Pertanto, non si dovrebbero diluire campioni che presentino risultati elevati di T3 libera. In particolare, campioni con risultati che eccedano il limite superiore della range di calibrazione del dosaggio, dovrebbero semplicemente essere riportati come tali.

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi *in vitro*. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34: 27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedi tavole e grafici per i dati *rappresentativi*. I risultati sono indicati in pg/mL. (Laddove non diversamente specificato, tutti i dati sono stati ottenuti su campioni di siero raccolti in provette senza gel separatore o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.)

Fattore di Conversione:
pg/mL × 1,536 → pmol/L

Range di calibrazione: 1,0–40 pg/mL (1,5–61 pmol/L)

Il dosaggio è standardizzato verso uno standard interno preparato usato con materiali e secondo procedure di qualità.

Sensibilità analitica: 1,0 pg/mL (1,5 pmol/L)

Precisione: Sono stati dosati campioni in doppio in 20 giorni, due sedute al giorno, per un totale di 40 sedute ed 80 replicati. (Vedi la Tabella "Precision".)

Specificità: Il dosaggio è estremamente specifico per la T3 libera. (Vedi la Tabella "Specificity".)

Effetti della TBG: Il calibratore zero è stato corretto con resina T3-assorbente (20, 40 e 80 µg/mL) e dosato. I risultati della TBG non hanno indicato alcuna interferenza. (Vedere la tavola "Effect of TBG".)

Effetti dell'Albumina: Sono stati dosati campioni corretti con albumina al carbone in siero umano (10, 20 e 50 mg/mL). (Vedere la tavola "Effect of Albumin".)

Effetti degli Acidi Grassi Non Esterificati (NEFA): Sono stati dosati campioni corretti con acido oleico (2,5 e 5,0 mmol/L). I risultati non hanno indicato effetti significativi al valore di 2,5 mmol/L, ma valori decrescenti a livelli più alti. (Vedere la tavola "Effect of Nonesterified Fatty Acids". In gravidanza o in caso di terapie a base di eparina, si potrebbero presentare livelli di NEFA in crescita.)

Altri Composti: Campioni analizzati dopo essere stati corretti con fenilbutazone (10, 100 e 1000 µg/dL), o fenitoina (5, 10, 25 e 50 µg/mL), o salicilato (10, 25, 50 e 100 mg/dL) non hanno presentato alcun effetto. (Vedere le tavole "Effect of Phenylbutazone", "Effect Phenytoin" e "Effect of Salicylate".)

Bilirubina: La presenza di bilirubina in concentrazioni fino a 200 mg/L non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Biotina: I campioni che contengono biotina a una concentrazione di 1500 ng/mL dimostrano una variazione nei risultati inferiore o pari al 10%. Le concentrazioni di biotina superiori a questo valore potrebbero portare a risultati non corretti dei campioni dei pazienti

Emolisi: La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 384 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Lipemia: Campioni grossolanamante lipemici possono interferire nel dosaggio. (Vedi la Tabella "Lipemia".)

Confronto di Metodi: Il dosaggio è stato comparato al dosaggio T3 Libera IMMULITE su 105 campioni di pazienti. (Range di concentrazione: da 1 fino a 14 pg/mL. Vedi grafico.) Con regressione lineare:

(IML 2000) = 1,05 (IML) + 0,41 pg/mL
r = 0,977

Valore medio:
3,5 pg/mL (IMMULITE 2000)
3,0 pg/mL (IMMULITE)

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore Nazionale.

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

IMMULITE 2000 T3 livre

Utilização: Para uso diagnóstico *in vitro* com os Analisadores dos Sistemas IMMULITE® 2000 – para a medição quantitativa da T3 livre em soro. As medições de T3 livre são utilizadas no diagnóstico e tratamento de doença da tiróide.

Números de catálogo:
L2KF32 (200 testes)
L2KF36 (600 testes)

Código do teste: **FT3** Cor: **Verde água**

Sumário e explicação do teste

Em condições fisiológicas normais a triiodotironina (T3) representa perto de 5% das hormonas tiroideias no plasma. Embora esteja presente em menor concentração do que a tiroxina (T4), a T3 tem maior actividade metabólica, um “turnover” mais rápido e um volume de distribuição maior. A maioria da T3 é produzida a partir da conversão extratiroidal da T4. Como a T4, a T3 circula quase na totalidade ligada às proteínas transportadoras: TBG, pré-albumina e albumina. A T3 livre constitui apenas 0,25% da T3 circulante total.

O doseamento da T3 total por imunoensaio tem uma grande variedade de utilidades bem definidas. Na presença de valores elevados de T4 total ou livre, o doseamento de T3 total ajuda a confirmar o diagnóstico de hipertiroidismo. Um aumento anormal de T3 total também poderá ocorrer com concentrações normais de T4 total - condição conhecida como toxicose da T3.

Na maioria dos casos, os níveis de T3 livre estão correlacionados com os de T3 total. No entanto, os níveis de T3 total não só dependem do estado da tiroide e da conversão periférica da T4 em T3 mas também da concentração das proteínas transportadoras das hormonas tiroideias. A T3 livre, por sua vez, é largamente insensível às variações nestas proteínas transportadoras. Assim, as elevações de TBG típicas da gravidez, do uso de contraceptivos orais, e da terapia com estrogéneos, têm como efeito um aumento nos valores de T3 total, enquanto que a T3 livre se mantém invariável.

A concentração de T3 livre reflecte tipicamente o estado actual da tiroide de um paciente de forma mais fidedigna do que a de T3 total.

Princípio do procedimento

Imunoensaio competitivo, baseado em análogo[25,26].

Ciclos de incubação: 2 × 30 minutos

Colheita

O EDTA não deve ser usado como anti-coagulante, porque pode afectar os resultados.

Amostras lipémicas ou totalmente contaminadas podem causar resultados errados. 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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 T3 Livre não foram ainda testados com todas as possiveis variações originadas pelos tipos de tubos.

Volume de amostra: 100 µL de soro

Estabilidade: 2 dias a 2–8°C, ou 2 meses a –20°C

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.



PRECAUÇÃO! POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO
Contém material de origem humana. Cada dádiva de sangue ou componente de sangue humano foi testada pelos métodos aprovados pela FDA quanto à presença de anticorpos dos vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e tipo 2 (VIH-2), bem como do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e dos anticorpos do vírus da hepatite C (VHC). Os resultados dos testes foram negativos (não repetidamente reativos). Nenhum teste oferece total garantia de que estes ou outros agentes infeciosos estejam ausentes; este material deve ser manuseado de acordo com as boas práticas laboratoriais e precauções universais.[27-29]

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.

H412	Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.
P273, P501	Evitar a libertação para o ambiente. Eliminar o conteúdo e o recipiente em conformidade com todos os regulamentos locais, regionais e nacionais.
	Contém: azida de sódio; Ajustes T3 Livre

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as normas aplicadas.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas obtidas de soro humano foram testadas, dando 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.

A azida sódica foi adicionada como conservante a concentrações inferiores a 0,1 g/dL. Quando eliminar o produto, utilize água em abundância para evitar a acumulação de azidas metálicas potencialmente explosivas nas canalizações de chumbo e cobre.

Substrato quimioluminescente: Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula).

Água: Utilize água destilada ou desionizada.

Materiais fornecidos

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. As etiquetas no interior das caixas são necessárias para o ensaio.

Embalagem de pérolas de T3 Livre (L2F312)
Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com anticorpo monoclonal de rato anti-T3. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KF32: 1 embalagem
L2KF36: 3 embalagens

Embalagem de reagentes de T3 Livre (L2F3A2)
Com código de barras, contendo reagentes liquidos, 10,5 mL, 10,5 mL e 11,5 mL respectivamente, prontos a usar.

O primeiro e segundo reagentes consistem em T3 analogo ligado a marcador em tampão, com conservante. O terceiro reagente é constituido por fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugado a anti-ligante em tampão, com conservante. Estável a 2–8°C até à data de expiração.
L2KF32: 1 embalagem
L2KF36: 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 T3 Livre (LF3L, LF3H)
Contém dois frascos (nível alto e baixo) de T3 livre liofilizada em matriz de soro humano, com conservante. Reconstituir cada frasco adicionando **4,0 mL** de água destilada ou desionizada. Estável por 30 dias após reconstituição a 2–8°C, ou 6 meses (em alíquotas) a –20°C.
L2KF32: 1 conjunto
L2KF36: 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 quiomioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Kit de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)

Também necessário
Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos

Procedimento do doseamento

Ter em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000.

Consultar o Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000 relativamente aos procedimentos de preparação, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável:
2 semanas

Amostras de controlo de qualidade:
Observe os regulamentos governamentais ou os requisitos de acreditação quanto à frequência do controlo de qualidade.

Utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de T3 livre.

A Siemens Healthcare Diagnostics recomenda a utilização de materiais de controlo de qualidade comercialmente disponíveis com pelo menos 2 níveis (baixo e alto). É alcançado um nível de desempenho satisfatório quando os valores dos analitos obtidos estiverem dentro dos Limites de Controlo Aceitáveis para o sistema ou dentro dos limites estabelecidos e determinados pelo regime de controlo de qualidade laboratorial interno adequado.

Valores de Referência

Adulto: Para determinar a gama de referência do T3 Livre IMMULITE 2000, foi efectuado um estudo com 212 indivíduos, aparentemente saudáveis. Os resultados obtidos foram os seguintes com intervalo de confiança de 1,8–4,2 pg/mL 95% para eutiroidismo em adultos.

Pediátrico: Os intervalos de referência da população pediátrica (crianças e adolescentes) para o ensaio T3 Livre IMMULITE foram estabelecidos de acordo com a norma EP28-A3C do CLSI[30].

Para efeitos de análise dos dados, a população foi dividida em três faixas etárias:

- Bebés: indivíduos com 1–23 meses de idade
- Crianças: indivíduos com 2–12 anos de idade
- Adolescentes: indivíduos com 13–20 anos de idade

Utilizou-se uma abordagem não paramétrica para estabelecer os intervalos de referência de crianças e adolescentes, segundo a qual foram calculados os

percentis 2,5 e 97,5 da distribuição de valores. Para a população de bebés, utilizou-se uma medição sólida de localização e dispersão, conforme desenvolvido por Horn e Pesce, para estimar os intervalos de referência dos percentis 2,5 e 97,5, abrangendo o tamanho de amostra mais pequeno[30–32].

Os intervalos de referência discriminados por faixa etária e número de amostras são apresentados na tabela de Intervalos de referência.

Intervalos de referência pediátricos do T3 Livre IMMULITE 2000

Faixa etária	*n*	Convencional (pg/mL)	SI (pmol/L)
Bebés (1–23 meses)	81	3,6–7,5	5,5–11,5
Crianças (2–12 anos)	195	3,7–6,6	5,7–10,1
Adolescentes (13–20 anos)	148	3,1–5,9	4,8–9,1

Estes valores devem ser considerados apenas como *directrizes*. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores.

Limitações

O doseamento de T3 livre funciona prioritariamente como um teste de confirmação para o hipertiroidismo e possui um valor limitado no contexto de hipotiroidismo. Pode haver sobreposição entre os valores de eutiroidismo e hipertiroidismo.

A interpretação dos resultados de T3 livre é complicada por uma variedade de medicamentos que podem afectar a ligação da T3 às proteínas de transporte da hormona tiróideia.

Em doenças severas não tiróideias, a avaliação do estado da tiróide torna-se particularmente difícil. Já que alguns pacientes nesta categoria podem sofrer de hipotiroidismo primário concomitante ou de um hipotiroidismo secundário compensatório, o imunoensaio de TSH é recomendado como um teste de confirmação neste contexto.

Em situações raras associadas com variações extremas na capacidade de ligação albumínica — tais como hipertiroxinemia disalbuminemica familiar (FDH) — o doseamento directo da hormona livre da tiróide pode produzir resultados enganadores.

Autoanticorpos em circulação para a T3, e inibidores de ligação de hormonas, podem interferir com o doseamento[2,3,12].

Estudos efectuados reportam que a heparina possui efeitos tanto *in vivo* como *in vitro* em hormonas livres tiróideias[8]. Portanto, as amostras não devem ser colhidas durante ou logo após a administração deste anticoagulante.

Como a diluição altera o equilíbrio entre a T3 livre e o ligado às proteínas, não é de esperar que o doseamento mantenha linearidade sob condições de diluição. Conseqüentemente, não se devem realizar tentativas de diluir amostras com resultados altos de T3 livre. Em particular, qualquer amostra com um resultado acima do limite superior da calibração do doseamento deve simplesmente ser reportado como tal.

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 apresentados em pg/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:
pg/mL × 1,536 → pmol/L

Calibração: 1,0–40 pg/mL
(1,5–61 pmol/L)

O ensaio é monotorizado com padrão interno feito com materiais qualificados e procedimentos de medição.

Sensibilidade Analítica: 1,0 pg/mL
(1,5 pmol/L)

Precisão: As amostras foram doseadas em duplicado durante 20 dias, 2 ensaios por dia, perfazendo um total de 40 ensaios e 80 réplicas. (Ver a tabela de "Precision".)

Especificidade: O doseamento é específico para a T3 livre. (Ver tabela de "Specificity".)

Efeito de TBG: O calibrador zero do doseamento foi adicionado com resina livre de T3 (20, 40 e 80 µg/mL) e doseado. Os resultados de TBG não apresentam nenhuma interferência. (Ver tabela "Effect of TBG".)

Efeito de Albumina: Amostras adicionadas com albumina de soro humano absorvida por carvão (10, 20 e 50 mg/mL) foram doseadas. (Ver tabela "Effect of Albumin".)

Efeitos de ácidos gordos não esterificados (NEFA): Amostras adicionadas com ácido oléico (2,5 e 5,0 mmol/L) foram doseadas. Os resultados não apresentaram nenhum efeito significativo a 2,5 mmol/L, mas sim um decréscimo de valores num nível superior. (Ver tabela "Effect of Nonesterified Fatty Acids". Níveis elevados de NEFA podem ser encontrados na gravidez e durante terapêutica com heparina.)

Outros Compostos: Resultados para amostras doseadas após serem adicionadas com fenilbutazona (10, 100 e 1000 µg/dL), ou fenitoína (5, 10, 25, e 50 µg/mL), ou salicilato (10, 25, 50 e 100 mg/dL) não apresentaram nenhum efeito decorrente destes compostos. (Ver tabelas "Effect of Phenylbutazone", "Effect of Phenytoin" e "Effect of Salicylate".)

Bilirrubina: A presença de bilirrubina em concentrações até 200 mg/L não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Biotina: As amostras que contenham biotina a uma concentração de 1500 ng/ml demonstram uma alteração igual ou inferior a 10% nos resultados. Concentrações de biotina superiores a esta poderão originar resultados incorretos para as amostras de doentes.

Hemolise: A presença de hemoglobina em concentrações até 384 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipemia: Amostras altamente lipémicas podem interferir com o doseamento. (Ver Tabela "Effect of Lipemia".)

Comparação de métodos: O doseamento foi comparado ao T3 Livre IMMULITE em 105 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 1 a 14 pg/mL. Ver gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 1,05 (IML) + 0,41 pg/mL
r = 0,977

Médias:
3,5 pg/mL (IMMULITE 2000)
3,0 pg/mL (IMMULITE)

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE and Coat-A-Count are trademarks of Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2018 Siemens Healthcare Diagnostics.
All rights reserved.

Made in: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

2018-03-15

PIL2KF3 – 24

cc#EU23262, cc#EU23262A, cc#EU23343

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol Definition

IVD

En: *In vitro* diagnostic medical device
De: Medizinisches Gerät zur *In-vitro* Diagnose
Es: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
Fr: Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
It: Dispositivo medico per diagnostica *in vitro*
Pt: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

REF

En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo

En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante

EC REP

En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia

Symbol Definition

CE

En: CE Mark
De: CE-Kennzeichen
Es: Marca CE
Fr: Marque CE
It: Marchio CE
Pt: Marca CE

CE 0088

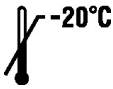
En: CE Mark with identification number of notified body
De: CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle
Es: Marca CE con número de identificación del organismo notificado
Fr: Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié
It: Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato
Pt: Marca CE, com número de identificação do organismo notificado

En: Consult instructions for use
De: Bedienungshinweise beachten
Es: Consulte las instrucciones de uso
Fr: Consulter le mode d'emploi
It: Consultare le istruzioni per l'uso
Pt: Consulte as instruções de utilização

En: Caution! Potential Biohazard
De: Vorsicht! Biologisches Risikomaterial
Es: ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial
Fr: Avertissement ! Risque biologique potentiel
It: Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico
Pt: Atenção! Potenciais Riscos Biológicos

2°C 8°C

En: Temperature limitation (2–8°C)
De: Temperaturgrenze (2–8°C)
Es: Limitación de temperatura (2–8°C)
Fr: Limites de température (2–8°C)
It: Limiti di temperatura (2–8°C)
Pt: Limites de temperatura (2–8°C)

Symbol	Definition
	**En:** Upper limit of temperature (≤ -20°C) **De:** Obere Temperaturgrenze (≤ -20°C) **Es:** Límite superior de temperatura (≤ -20°C) **Fr:** Limite supérieure de température (≤ -20°C) **It:** Limite superiore di temperatura (≤ -20°C) **Pt:** Limite máximo de temperatura (≤ -20°C)
	**En:** Lower limit of temperature (≥ 2°C) **De:** Mindesttemperatur (≥ 2°C) **Es:** Límite inferior de temperatura (≥ 2°C) **Fr:** Limite inférieure de température (≥ 2°C) **It:** Limite inferiore di temperatura (≥ 2°C) **Pt:** Limite mínimo de temperatura (≥ 2°C)
	**En:** Do not freeze (> 0°C) **De:** Nicht einfrieren (> 0°C) **Es:** No congelar (> 0°C) **Fr:** Ne pas congeler (> 0°C) **It:** Non congelare (> 0°C) **Pt:** Não congelar (> 0°C)
	**En:** Do not reuse **De:** Nicht zur Wiederverwendung **Es:** No reutilizar **Fr:** Ne pas réutiliser **It:** Non riutilizzare **Pt:** Não reutilizar
	**En:** Keep away from sunlight **De:** Vor Sonneneinstrahlung schützen **Es:** Proteger de la luz solar **Fr:** Maintenir hors de portée de la lumière du soleil **It:** Non esporre alla luce del sole **Pt:** Manter afastado da luz solar
	**En:** Batch code **De:** Chargenbezeichnung **Es:** Número de lote **Fr:** Numéro de code du lot **It:** Codice lotto **Pt:** Código de lote

Symbol	Definition
	**En:** Contains sufficient for (n) tests **De:** Es reicht für (n) Tests **Es:** Contiene suficiente para (n) pruebas **Fr:** Contient du matériel suffisant pour (n) tests **It:** Contiene materiale sufficiente per (n) test **Pt:** Contém o suficiente para (n) testes
2008-01	**En:** Date format (year-month) **De:** Datumsformat (Jahr-Monat) **Es:** Formato de fecha (año-mes) **Fr:** Format de la date (année-mois) **It:** Formato data (anno-mese) **Pt:** Formato de data (ano-mês)
	**En:** Use by **De:** Verwendbar bis **Es:** Fecha de caducidad **Fr:** A utiliser avant **It:** Usare entro **Pt:** Usar até
	**En:** Health Hazard **De:** Gesundheitsgefährdung **Es:** Peligro para la salud **Fr:** Dangereux pour la santé **It:** Pericolo per la salute **Pt:** Perigo para a saúde
	**En:** Exclamation Mark **De:** Ausrufezeichen **Es:** Signo de exclamación **Fr:** Point d'exclamation **It:** Punto esclamativo **Pt:** Ponto de exclamação
	**En:** Corrosion **De:** Korrosion **Es:** Corrosión **Fr:** Corrosion **It:** Corrosione **Pt:** Corrosão
	**En:** Skull and Crossbones **De:** Totenkopf mit gekreuzten Knochen **Es:** Calavera y tibias cruzadas **Fr:** Tête de mort sur tibias croisés **It:** Teschio e tibie incrociate **Pt:** Caveira sobre tíbias cruzadas
	**En:** Environment **De:** Umwelt **Es:** Medio ambiente **Fr:** Environnement **It:** Ambiente **Pt:** Ambiente

Symbol	Definition
BEAD PACK	**En:** Bead Pack **De:** Kugel-Container **Es:** Cartucho de bolas **Fr:** Cartouche de billes **It:** Contenitore di biglie **Pt:** Embalagem de esferas
TEST UNIT	**En:** Test Unit **De:** Testeinheit **Es:** Unidades de análisis **Fr:** Unité de test **It:** Test Unit **Pt:** Unidades de Teste
REAG WEDGE REAG WEDGE A REAG WEDGE B REAG WEDGE D	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste

Symbol	Definition
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL CONTROL 1 CONTROL 2	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL 3	
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo

Symbol	Definition
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

Free T4

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 Free T4

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the quantitative measurement of non-protein-bound thyroxine (free T4) in serum and heparinized plasma. Measurements of free T4 are used in the diagnosis and treatment of thyroid disease.

Catalog Numbers:
L2KFT42 (200 tests)
L2KFT46 (600 tests)

Test Code: **F4** Color: **Dark Green**

Summary and Explanation

The principal thyroid hormone, thyroxine (T4), circulates almost entirely bound to carrier proteins, chief of which is thyroxine-binding globulin (TBG). Altered carrier protein concentrations induce changes in total T4 levels, and free T4 concentrations tend to stay within a tight range. For this reason, total T4 measurements do not always reflect thyroid status. TBG levels may vary under different physiological conditions, such as during pregnancy, oral contraceptive use, and estrogen therapy.[1,2] Total T4 levels may increase above the normal range while free T4 remains normal. Alternatively, patients with a dysfunctional thyroid gland and altered TBG levels can have normal total T4 levels, masking the illness. Since abnormal T4 levels may signify either abnormal thyroid function or carrier protein variation (physiological or pathological), free T4 measurements more highly correlate with thyroid status than total T4 measurements.[3,4]

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 Free T4 is a solid-phase, enzyme-labeled chemiluminescent competitive immunoassay. The solid phase (bead) is coated with monoclonal murine anti-T4 antibody. The liquid phase consists of alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to T4.

The patient sample and the reagent are incubated together with the coated bead for 30 minutes. During this time, free T4 in the sample competes with enzyme conjugated T4 in the reagent for a limited number of antibody binding sites on the bead. Unbound patient sample and enzyme conjugate are then removed by centrifugal washes. Finally, chemiluminescent substrate is added to the reaction tube containing the bead and the signal is generated in proportion to the bound enzyme.

The IMMULITE 2000 Free T4 procedure is a *direct* or *single test* assay, in the sense that its results are not calculated as a function of total T4, but interpolated from a (stored) standard curve calibrated in terms of free T4 concentrations.[6] In this respect it differs from so-called free T4 index determinations. Unlike the classic equilibrium dialysis methods, it requires neither a pre-incubation step nor preliminary isolation of the free fraction by dialysis or column chromatography.

Incubation Cycles: 1 × 30 minutes
Time to First Result: 35 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 T4 has not been tested with all possible variations of tube types.

Volume required: 10 µL serum or heparinized plasma.

Storage. 2 days at 2–8°C, or 2 months frozen at –20°C.[1]

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.



CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD
Contains human source material. Each donation of human blood or blood component was tested by FDA-approved methods for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) as well as for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis C virus (HCV). The test results were negative (not repeatedly reactive). No test offers complete assurance that these or other infectious agents are absent; this material should be handled using good laboratory practices and universal precautions.[9-11]

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.



H302 + H312, H412

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

Warning! Harmful if swallowed or in contact with skin. Harmful to aquatic life with long lasting effects. Wear protective gloves/ protective clothing/eye protection/face protection. Avoid release to the environment. IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell. IF ON SKIN: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell. Dispose of contents and container in accordance with all local, regional, and national regulations.
Contains: sodium azide; Free T4 Adjustors

For professional use.

For prescription use only.



CAUTION
Federal (USA) law restricts this device to sale by or on the order of a licensed healthcare professional.

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 T4 Bead Pack (L2FT412)
With barcode. 200 beads, coated with monoclonal murine anti-T4 antibody. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KFT42: 1 pack
L2KFT46: 3 packs

Free T4 Reagent Wedge (L2FT4A2)
With barcode. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to T4 in buffer. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KFT42: 1 wedge
L2KFT46: 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 T4 Adjustors (LFT4L, LFT4H)
Two vials (Low and High) of lyophilized free T4 in processed human serum, with preservative. Reconstitute each vial with **2.0 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.
L2KFT42: 1 set
L2KFT46: 2 sets

Before running the adjustors, 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
Sample transfer pipets; distilled or deionized water; controls

Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual for preparation, setup, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval:
2 weeks

Quality Control: Follow government regulations or accreditation requirements for quality control frequency.

To monitor system performance and chart trends, as a minimum requirement, quality control materials with at least two levels (low and high) of Free T4 should be assayed on each day that samples are analyzed. Quality control samples should also be assayed when performing adjustment. Treat all quality control samples the same as patient samples.

Siemens Healthcare Diagnostics recommends the use of commercially available quality control materials with at least 2 levels (low and high). A satisfactory level of performance is achieved when the analyte values obtained are within the Acceptable Control Range for the system, or within an established range determined by an appropriate internal laboratory quality control scheme.

If the quality control results do not fall within the Expected Values or within the laboratory's established range, do not report patient results. Take the following actions:

- Verify that the materials are not expired.
- Verify that required instrument maintenance was performed.
- Verify that the assay was performed according to the instructions for use.
- Re-run the assay with fresh quality control samples.
- If necessary, contact technical support provider for assistance.

Expected Values

Adult: Based on its relationship to ADVIA Centaur FrT_4 assay (see Method Comparison), IMMULITE 2000 Free T4 can be expected to have essentially the same reference ranges:

	FT4 Range (ng/dL)	FT4 Range (pmol/L)
Euthyroid	0.89–1.76	11.5–22.7
Hypothyroid	< 0.89	< 11.5
Hyperthyroid	> 1.76	> 22.7

Pediatric: Reference intervals for the pediatric population (children and adolescents) were established for the IMMULITE Free T4 assay in accordance with CLSI guideline EP28-A3C.[12]

For analysis of data, the population was divided into three age subgroups:

- Infants: subjects aged 1–23 months
- Children: subjects aged 2–12 years
- Adolescents: subjects aged 13–20 years

A non-parametric approach was used to establish the reference intervals for children and adolescents where the 2.5 and 97.5 percentiles of the distribution of values were calculated. For the infant population, a robust measure of location and spread, as developed by Horn and

Pesce, was used to estimate the 2.5 and the 97.5 percentile reference intervals, accommodating the smaller sample size.[12, 13, 14]

The reference intervals detailed by age group and number of samples are presented in the Reference Intervals table.

IMMULITE 2000 Free T4
Pediatric Reference Intervals

Age Group	*n*	Conventional (ng/dL)	SI (pmol/L)
Infants (1–23 Months)	81	0.80–1.27	10.3–16.3
Children (2–12 Years)	197	0.74–1.28	9.5–16.5
Adolescents (13–20 Years)	148	0.75–1.27	9.7–16.3

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

Limitations

The interpretation of free T4 results is complicated by a variety of drugs which can affect the binding of T4 to the thyroid hormone-carrier proteins or interfere with its metabolism to T3.[4]

In severe nonthyroidal illness, the assessment of thyroid status becomes especially difficult. Since some patients in this category may suffer from concomitant primary hypothyroidism or from a compensatory secondary hypothyroidism, TSH immunoassay has been recommended as a confirmatory test in this context.[3]

In rare conditions associated with extreme variations in the albumin-binding capacity for T4 — such as familial dysalbuminemic hyperthyroxinemia (FDH) — direct free thyroid hormone assays may yield misleading results.

Circulating autoantibodies to T4, and hormone-binding inhibitors may interfere.

Heparin has been reported to have *in vivo* and *in vitro* effects on free T4 assays. Hence, samples should not be collected during or soon after the administration of this anticoagulant.

Because EDTA would have a significant effect on results, it should not be used as an anticoagulant.

Heterophilic antibodies in human serum or plasma 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/dL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Conversion Factor:
ng/dL $\times$ 12.87 $\rightarrow$ pmol/L

Reportable Range: 0.3–6 ng/dL (3.9–77.2 pmol/L)

The assay is traceable to an internal standard manufactured using qualified materials and measurement procedures.

Analytical Sensitivity:
Limit of Blank (highest value expected for a sample with no analyte; determined in accordance with CLSI EP17-A[7]):
0.11 ng/dL (1.42 pmol/L)

Limit of Detection (lowest detectable concentration; determined in accordance with CLSI EP17-A[7]): 0.22 ng/dL (2.83 pmol/L)

Functional Sensitivity: (concentration with 20% coefficient of variation (CV) determined in accordance with CLSI EP5-A2[8]): 0.31 ng/dL (3.99 pmol/L)

Precision: Samples were processed in duplicate over the course of 20 days, two runs per day, for a total of 40 runs and 80 replicates. (See "Precision" table.)

Specificity: The antibodies are highly specific for free T4. (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 634 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 1000 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 49 volunteers into plain, heparinized and Becton Dickinson SST® plastic vacutainer tubes. Ten of the matched samples were spiked with various concentrations of T4, to obtain values throughout the reportable range of the assay, and then assayed by the IMMULITE 2000 Free T4 procedure.

(Heparin) = 1.05 (Serum) – 0.018 ng/dL
r = 0.989

(SST) = 1.04 (Serum) – 0.044 ng/dL
r = 0.997

Means:
1.53 ng/dL (Serum)
1.59 ng/dL (Heparin)
1.55 ng/dL (SST)

Method Comparison: The IMMULITE 2000 Free T4 assay was compared to ADVIA Centaur FrT_4 on 282 patient samples. (Concentration range: approximately 0.3 to 5.2 ng/dL. See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 1.06 (Centaur) – 0.001 ng/dL
r = 0.981

Means:
1.43 ng/dL (IMMULITE 2000)
1.35 ng/dL (Centaur)

References

1) Hay ID, Bayer MF, et al. American Thyroid Association assessment of current free thyroid hormone and thyrotropin measurements and guidelines for future clinical assays. Clin Chem 1991;37:2002-8. 2) Lindstedt G, et al. Clinical use of laboratory thyroid tests and investigations. JIFCC 1994;6:136-41.
3) Mandel SJ, Brent GA, Larsen PR. Levothyroxine therapy in patients with thyroid disease. Ann Intern Med 1993;119:492-502.
4) Singer PA, Cooper DS, et al. Treatment guidelines for patients with hyperthyroidism and hypothyroidism. JAMA 1995;273:808-12.
5) Witherspoon LR, El Shami AS, et al. Chemically blocked analog assays for free thyronines. Clin Chem 1988;34:9–16 and 17–23.
6) Wosilait WD. A theoretical analysis of the distribution of thyroxine among sites on thyroid binding globulin, thyroid binding prealbumin and serum albumin. Res Commun Chem Pathol Pharmacol 1977;16:541–8. 7) CLSI. Protocols for the Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI document EP17-A Vol 24 (No 34). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA, 2004.
8) Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP5-A2. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA, 2004. 9) Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. MMWR, 1988;37:377–82, 387–8. 10) Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3. 11) Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030. 12) Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010. CLSI Guideline EP28-A3C.
13) Horn PS, Pesce AJ, Reference Intervals. A User's Guide, Washington, DC:AACC Press; 2005. 14) Reed AH, Henry RJ, Mason WB. Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. 1971; 17:275-284.

Technical Assistance

In the United States, contact Siemens Healthcare Diagnostics Technical Services department. Tel: 877.229.3711. Outside the United States, contact your National Distributor.

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

Precision (ng/dL)

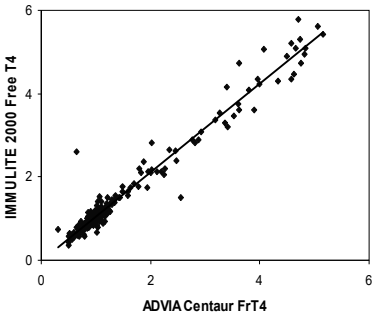
		Within Run[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	0.51	0.040	7.8%	0.052	10.2%
2	0.85	0.038	4.5%	0.060	7.1%
3	1.13	0.067	5.9%	0.072	6.4%
4	1.49	0.072	4.8%	0.090	6.0%
5	2.91	0.103	3.5%	0.104	3.6%
6	4.82	0.144	3.0%	0.172	3.6%

Specificity

ng/dL Added [1]	Apparent ng/dL[2]	%Cross-reactivity[3]
Albumin		
50	ND	ND
D-T4		
1000	ND	ND
3,5-Diiodo-L-thyronine		
10,000	ND	ND
3,5-Diiodo-DL-thyrosine		
100,000	ND	ND
L-T3		
100,000	1.15	ND
5,5-Diphenylhydantoin		
4,000,000	0.70	ND
3-Monoiodo-L-tyrosine		
100,000	ND	ND
Salicylic Acid		
50	0.63	1.26%
3,3',5,5'-Tetraiodothyroacetic Acid		
2000	ND	ND

ND: not detectable[4]

Method Comparison



(IML 2000) = 1.06 (Centaur) – 0.001 ng/dL
r = 0.981

Deutsch. **Precision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]SD (Standardabweichung), [5]CV (Variationskoeffizient). **Specificity**: [1]zugesetzte Menge, [2]gemessene Konzentration, [3]% Kreuzreaktivität, [4]NN: Nicht nachweisbar. **Method Comparison**: Free T4: Freies T4.

Español. **Precision**: [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV. **Specificity**: [1]Cantidad añadida, [2]Concentración aparente, [3]% Reacción cruzada, [4]ND: no detectable. **Method Comparison**: Free T4: T4 Libre.

Français. **Precision**: [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]SD, [5]CV. **Specificity**: [1]ajouté, [2]Concentration apparente, [3]Réaction croisée %. [4]ND: non détectable. **Method Comparison**: Free T4: T4 Libre.

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione). **Specificity**: [1]quantità aggiunta, [2]Concentrazione apparente, [3]Percentuale di Crossreattività, [4]ND: non determinabile. **Method Comparison**: Free T4: T4 Libero.

Português. **Precision**: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação. **Specificity**: [1]Quantidade adicionada, [2]Apparent Concentration, [3]Percentagem de reacção cruzada, [4]ND: não detectável. **Method Comparison**: Free T4: T4 Livre.

Deutsch

Freies T4

Anwendung: *In-vitro*-Diagnostikum zur quantitativen Bestimmung von nicht an Proteine gebundenem Thyroxin (freies T4) in Serum und heparinisiertem Plasma unter Verwendung der IMMULITE® 2000 Analysesysteme. Messungen des freien T4 erfolgen zur Diagnose und Behandlung von Schilddrüsenerkrankungen.

Artikelnummern:
L2KFT42 (200 tests)
L2KFT46 (600 tests)

Testcode: **F4** Farbe: **dunkelgrün**

Klinische Relevanz

Thyroxin (T4), das hauptsächlich von der Schilddrüse gebildete Hormon, zirkuliert im Blut, im wesentlichen gebunden an Trägerproteine. Hauptbindeprotein für das T4 ist das Thyroxin-bindende-Globulin (TBG). Konzentrationsänderungen der Bindeproteine führen zu einer Veränderung in der Gesamt-T4-Konzentration, während die Konzentration des freien Thyroxins weitgehend unverändert ist. Der TBG-Spiegel verändert sich unter verschiedenen physiologischen Zuständen z. B. in der Schwangerschaft, bei Verwendung von oralen Kontrazeptiva und unter Östrogen-Therapie.[1,2] Unter diesen Bedingungen ist der Gesamt-T4-Spiegel erhöht, während die Konzentration des freien T4 im Normbereich liegt und den Funktionszustand der Schilddrüse richtig darstellt. Gleichzeitig kann bei einer Schilddrüsenerkrankung mit verändertem TBG-Spiegel die Gesamt-T4-Konzentration im Normbereich liegen und so die Diagnose der Erkrankung erschweren. Im Gegensatz zu Gesamt-T4, welches durch Veränderungen der Bindungsproteine beeinflusst wird, reflektiert fT4 die aktuelle Schilddrüsenfunktion und sollte daher in der Funktionsdiagnostik eingesetzt werden.[3,4]

Methodik

IMMULITE 2000 Freies T4 ist ein kompetitiver Festphasen-, enzymmarkierter, Chemilumineszenz-Immunoassay. Die feste Phase (Kugel) ist mit einem monoklonalen Maus-anti-T4-Antikörper beschichtet. Die flüssige Phase besteht aus alkalischer Phosphatase (Kalbsdarm) konjugiert mit T4.

Die Patientenprobe und das Reagenz werden zusammen mit der beschichteten Kugel 30 Minuten inkubiert. Während dieser Zeit konkurriert freies T4 in der Probe mit enzymkonjugiertem T4 im Reagenz um eine begrenzte Anzahl von Antikörper-Bindestellen auf der Kugel. Ungebundene Teile der Patientenprobe und des Enzymkonjugats werden anschließend in einem zentrifugalen Waschschritt entfernt. Zum Schluss wird chemilumineszierendes Substrat zur Kugel zugegeben und ein Signal proportional zu den gebundenen Enzymen generiert.

Der IMMULITE 2000 Freies T4 Assay ist ein direkter oder Einzelwert-Assay, d. h. dass die Werte nicht als Funktion des Gesamt-T4 berechnet werden, sondern anhand einer mit FT4-Konzentrationen ermittelten (gespeicherten) Standardkurve berechnet werden.[6] Unter diesem Gesichtspunkt unterscheidet sich der Test von sog. FT4-Index Bestimmungen.
Im Gegensatz zur klassischen Gleichgewichtsdialyse benötigt sie weder zusätzliche Inkubationsschritte noch vorangeschaltete Isolierung durch Dialyse oder Säulenchromatographie.

Inkubationszyklen: 1 × 30 Minuten
Zeit zum ersten Ergebnis: 35 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 zurückhaltend zu interpretieren.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter 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 T4 sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden.

Erforderliche Menge: 10 µl Serum oder heparinisiertes Plasma

Lagerung: 2 Tage bei 2–8°C, oder 2 Monate eingefroren bei –20°C.[1]

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *in vitro*-Diagnostik.



VORSICHT! BIOLOGISCHES RISIKOMATERIAL
Enthält Material humanen Ursprungs. Alle Blutspenden oder Blutkomponenten menschlicher Herkunft wurden nach FDA-genehmigten Methoden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die HI-Viren Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2) sowie von Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und Antikörpern gegen den Hepatitis C-Virus (HCV) getestet. Die Testergebnisse waren negativ (nicht wiederholt reaktiv). Durch keinen Test kann das Vorhandensein dieser oder anderer infektiöser Stoffe vollständig ausgeschlossen werden. Dieses Material ist mit den üblichen Vorsichtsmaß-nahmen und gemäß der allgemein anerkannten guten Laborpraxis zu handhaben.[9-11]

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.



H302 + H312, H412

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

Warnung! Gesundheits-schädlich bei Verschlucken oder Hautkontakt. Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/ Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen. Freisetzung in die Umwelt vermeiden. BEI VERSCHLUCKEN: Bei Unwohlsein GIFT-INFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONS-ZENTRUM oder Arzt anrufen. Inhalt und Behälter sind in Übereinstimmung mit den gesetzlichen Bestimmungen zu entsorgen.
Enthält: Natriumazid; Freies T4-Kalibratoren

Nur zur Verwendung durch Fachkräfte bestimmt.

Verschreibungspflichtig.



VORSICHT
Das Bundesrecht der USA erlaubt den Verkauf dieses Medizinprodukts nur durch oder auf Anordnung einer staatlich anerkannten Fachkraft im Gesundheitswesen.

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 T4 Kugel-Container (L2FT412)
Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit anti-T4-Antikörpern (monoklonal, Maus). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KFT42: 1 Container
L2KFT46: 3 Container

Freies T4 - Reagenzbehälter (L2FT4A2)
Mit Barcode. 11,5 ml alkalische Phosphatase (Kalbsdarm) konjugiert mit T4 im Puffer. Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.
L2KFT42: 1 Behälter
L2KFT46: 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 T4 - Kalibratoren (LFT4L, LFT4H)
Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) mit lyophilisiertem freies T4 in prozessiertem Human-Serum, mit Konservierungsstoffen. Die Fläschchen mit je **2,0 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 oder 6 Monate (aliquotiert) bei –20°C haltbar.
L2KFT42: 1 set
L2KFT46: 2 sets

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Glasöhrchen 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
Transferpipetten für die Proben; destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Kontrollen

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Kalibration, Test- und Qualitätskontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme.

Empfohlenes Kalibrationsintervall: 2 Wochen

Qualitätskontrolle: Jeweils gültige gesetzlichen Bestimmungen oder Akkreditierungsanforderungen sind bei der Festlegung der Intervalle zur Durchführung der Qualitätskontrollen zu berücksichtigen.

Um die Leistungsfähigkeit des Systems zu beobachten und Trends zu erkennen, sind Kontrollen mit mindestens 2 unterschiedlichen Freies T4 Konzentrationen (niedrig und hoch) an jedem Tag einzusetzen, an dem auch Patientenproben gemessen werden. Qualitätskontrollproben müssen auch nach jeder Kalibration verwendet werden. Alle Qualitätskontrollproben sind wie Patientenseren zu behandeln.

Siemens Healthcare Diagnostics empfiehlt die Verwendung kommerziell verfügbarer Kontrollproben mit mindestens 2 unterschiedlichen Freies T4 Konzentrationen (niedrig und hoch). Akzeptable Leistungsfähigkeit ist gewährleistet, wenn die Werte für den Analyten innerhalb des Kontrollzielbereich des Systems oder dem in einem internen Qualitätskontrollprogramm des Labors ermittelten Zielbereich liegen.

Wenn die Ergebnisse der Qualitäts-kontrollproben nicht innerhalb der

Systemzielbereiche oder der intern ermittelten Zielbereiche liegen, dürfen Patientenergebnisse nicht berichtet werden. Die folgenden Maßnahmen sind zu treffen:

- Stellen Sie sicher, dass das Material nicht das Verfallsdatum überschritten hat.
- Stellen Sie sicher, dass die regelmäßige Wartung des Systems durchgeführt wurde.
- Stellen Sie sicher, dass der Test gemäß der Testanleitung durchgeführt wurde.
- Wiederholen Sie die Messung mit frischen Qualitätskontrollproben.
- Fall nötig kontaktieren Sie den technischen Support um weitere Hilfe zu erhalten.

Referenzwerte

Erwachsene: Auf Grund des Verhältnisses zum ADVIA Centaur FrT_4 Assay (siehe Methodenvergleich) kann im Prinzip für das IMMULITE 2000 Freie T4 System mit den gleichen Referenzbereichen gerechnet werden:

	FT4 Bereich (ng/dl)	FT4 Bereich (pmol/l)
Euthyreot	0,89–1,76	11,5–22,7
Hypothyreot	< 0,89	< 11,5
Hyperthyreot	> 1,76	> 22,7

Kinder: Die pädiatrischen Referenzbereiche (Kinder und Jugendliche) wurden in Übereinstimmung mit der CLSI-Richtlinie EP28-A3C für den IMMULITE freies T4-Test festgelegt.[12]

Für die Datenanalyse wurde die Population nach Alter in drei Untergruppen eingeteilt:

- Kleinkinder: Probanden im Alter von 1–23 Monaten
- Kinder: Probanden im Alter von 2–12 Jahren
- Jugendliche: Probanden im Alter von 13–20 Jahren

Die Referenzbereiche für Kinder und Jugendliche wurden mit Hilfe einer nonparametrischen Methode ermittelt, wobei das 2,5. und 97,5. Perzentil der Werteverteilung berechnet wurden. In der Kleinkinderpopulation wurde zur Berücksichtigung der geringeren Probenanzahl der Stichprobe eine robuste, von Horn und Pesce entwickelte Methode zur Ermittlung des Referenzintervalls und der 2,5. und 97,5. Perzentile verwendet.[12, 13, 14]

Die nach Altersgruppe und Anzahl der Proben aufgeschlüsselten Referenzbereiche sind in der Tabelle „Referenzbereiche“ dargestellt.

Pädiatrische Referenzbereiche für IMMULITE 2000 freies T4

Altersgruppe	*n*	Konventionell (ng/dl)	SI (pmol/l)
Kleinkinder (1–23 Monate)	81	0,80–1,27	10,3–16,3
Kinder (2–12 Jahre)	197	0,74–1,28	9,5–16,5
Jugendliche (13–20 Jahre)	148	0,75–1,27	9,7–16,3

Diese Grenzwerte sind lediglich als *Richtlinien* aufzufassen. Jedes Labor sollte seine eigenen Referenzbereiche etablieren.

Grenzen der Methode

Die Interpretation der FT4 Ergebnisse wird durch eine Vielzahl von Medikamenten erschwert, die die Bindung des T4 an Schildrüsenhormon-transportierende Proteine beeinflussen oder die Umwandlung zu T3 stören.[4]

Bei schweren nichtthyroidalen Erkrankungen ist die Bewertung des Schildrüsen-Status besonders schwierig. Da einige dieser Patienten an begleitendem primären Hypothyroidismus oder an kompensatorischem sekundären Hypothyroidismus leiden können, wurde in diesem Zusammenhang der TSH Immunoassay als Bestätigungstest empfohlen.[3]

In seltenen Fällen mit extremen Schwankungen in der T4-Bindungskapazität, wie z. B. bei familiärer Dysalbumin-Hyperthyroxinämie (FDH) können die Assays für freie Schilddrüsenhormone irreführende Ergebnisse liefern.

Zirkulierende T4-Autantikörper sowie Inhibitoren der Hormonbindung können interferieren.

Heparin kann *in vivo* und *in vitro* den FT4- Assay beeinflussen. Daher sollten Proben nicht während oder kurz nach der Verabreichung dieses Antikoagulanz gesammelt werden.

Da EDTA einen signifikanten Einfluss auf die Ergebnisse haben würde, sollte es nicht als Antikoagulanz verwendet werden.

Heterophile Antikörper in Humanseren oder Plasma 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/dl ausgedrückt. (Alle Daten wurden — sofern nicht anders angegeben — aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Umrechnungsfaktor:
ng/dl $\times$ 12,87 $\rightarrow$ pmol/l

Messbereich: 0,3–6 ng/dl
(3,9–77,2 pmol/l)

Die Methode ist rückführbar auf einen internen Standard, der mittels qualifizierter Materialien und Messmethoden hergestellt wurde.

Analytische Sensitivität: Blank-Grenze (höchster zu erwartender Wert bei Abwesenheit des Analyten in der Probe; ermittelt in Übereinstimmung mit den Richtlinien CLSI EP17-A[7]):
0,11 ng/dl (1,42 pmol/l)

Untere Nachweisgrenze (niedrigste zu messende Konzentration; ermittelt in Übereinstimmung mit den Richtlinien CLSI EP17-A[7]): 0,22 ng/dl (2,83 pmol/l)

Funktionale Sensitivität: (niedrigste Konzentration mit einem Variations-koeffizienten (CV) von 20%; ermittelt in Übereinstimmung mit den CLSI EP5-A2[8]): 0,31 ng/dl (3,99 pmol/l)

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Testansätzen in Doppelbestimmung gemessen (insgesamt 40 Bestimmungen und 80 Einzel-messungen. (Siehe Tabelle „Präzision“.)

Spezifität: Hochspezifischer Anti-freies T4-Antikörper. (Siehe Tabelle „Spezifität“.)

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 634 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride hat in Konzentrationen bis zu 1000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Alternativer Probentyp: Um die Auswirkungen verschiedener Probenarten zu untersuchen, wurde Blut von 49 Freiwilligen in Röhrchen ohne Additive, in Heparin, und Becton Dickinson SST Plastik Vacutainer Röhrchen gesammelt. Zehn der passenden Proben wurden mit verschiedenen Konzentrationen von T4 versetzt, um Werte über den gesamten Messbereich des Assays zu erhalten. Die Messungen wurden mit dem IMMULITE 2000 Freie T4 Verfahren durchgeführt,

(Heparin) = 1,05 (Serum) – 0,018 ng/dl
r = 0,989

(SST) = 1,04 (Serum) – 0,044 ng/dl
r = 0,997

Mittelwerte:
1,53 ng/dl (Serum)
1,59 ng/dl (Heparin)
1,55 ng/dl (SST)

Methodenvergleich: Der IMMULITE 2000 Freie T4 Assay wurde anhand von 282 Patientenproben mit dem ADVIA FrT_4 verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 0,3 bis 5,2 ng/dl. Siehe Grafik.) Mit linearer Regression:

(IML 2000) = 1,06 (Centaur) – 0,001 ng/dl
r = 0,981

Mittelwerte*:*
1,43 ng/dl (IMMULITE 2000)
1,35 ng/dl (Centaur)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

T4 Libre

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro*, utilizado con los analizadores IMMULITE® 2000 para la medición cuantitativa de tiroxina no unida a proteínas (T4 libre) en suero y plasma con heparina. Las mediciones de T4 libre se utilizan en el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad tiroidea.

Números de Catálogo:
L2KFT42 (200 tests)
L2KFT46 (600 tests)

Código del Test: **F4** Color: **Verde oscuro**

Resumen y Explicación del Test

La principal hormona tiroidea, Tiroxina (T4), circula casi exclusivamente unida a proteínas transportadoras, de las cuales la principal es la globulina transportadora de las hormonas tiroideas (TBG). Alteraciones en la concentración de las proteínas transportadoras conllevan cambios en los niveles de T4 total, y la concentración de T4 libre se mantiene dentro de un rango estrecho. Por esta razón, la cuantificación de T4 total no siempre refleja el estado tiroideo. Los niveles deTBG pueden variar durante varias condiciones fisiológicas diferentes, como el embarazo, el uso de anticonceptivos orales y la terapia con estrógenos[1,2], siendo los niveles de T4 total elevados mientras que los de T4 libre permanecen normales. Al contrario, pacientes con una glándula tiroidea no funcional y niveles alterados de TBG pueden mostrar niveles normales de T4 total enmascarando la enfermedad. Mientras que unos niveles anormales de T4 total pueden deberse tanto a una función anormal del tiroides como a una variación en la concentración de las proteínas transportadoras (fisiológica o patológica), los niveles de T4 libre se correlacionan mejor con el estado tiroideo que los niveles de T4 total[3,4].

Principio del análisis

T4 Libre IMMULITE 2000 es un inmunoanálisis quimioluminiscente enzimático competitivo en fase sólida. La fase sólida (bola) está recubierta con un anticuerpo monoclonal murino anti-T4. La fase líquida consiste en fosfatasa alcalina (intestino de ternera) conjugada con T4.

La muestra del paciente y el reactivo se incuban junto con la bola recubierta durante 30 minutos. Durante este tiempo, la T4 libre presente en la muestra compite con la enzima conjugada con T4, en el reactivo, por un número limitado de sitios de unión a anticuerpos de la bola. La muestra de paciente no unida y la enzima conjugada se eliminan después mediante lavado por centrifugación. Finalmente, se añade el sustrato quimioluminiscente sobre el tubo de reacción que contiene la bola y se genera una señal proporcional a la cantidad de enzima unida.

El análisis de T4 Libre IMMULITE 2000 es un análisis simple o directo, en el sentido que sus resultados no son calculados en función de T4 total sino que son interpolados sobre una curva de calibración en términos de concentración de T4 libre[6]. En este sentido, difiere de las determinaciones del supuesto índice de T4 libre. A diferencia de los métodos de diálisis de equilibrio clásicos, no requiere ningún paso de preincubación o separación de la fracción libre mediante diálisis o cromatografía en columna.

Ciclos de incubación: 1 × 30 minutos
Tiempo para el primer resultado:
35 minutos

Recogida de la muestra

Se recomienda ultracentrífugar 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 centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El T4 Libre IMMULITE 2000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos.

Volumen requerido: 10 µl de suero o plasma con heparina

Conservación. 2 días a 2–8°C, o 2 meses a –20°C[1].

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.



¡PRECAUCIÓN! RIESGO BIOLÓGICO POTENCIAL
Contiene material de origen humano. Cada donación de sangre humana o componente sanguíneo ha sido probada por métodos aprobados por la FDA con el fin de detectar la presencia de anticuerpos de los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2), así como el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y el anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (VHC). Los resultados de estas pruebas fueron negativos (no repetidamente reactivos). Ninguna prueba ofrece total garantía de que en las muestras no haya estos agentes infecciosos u otros; por tanto, este material se deberá manipular conforme a las prácticas recomendables de laboratorio y las precauciones universales.[9-11]

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.



H302 + H312, H412

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

¡Advertencia! Nocivo en caso de ingestión o en contacto con la piel. Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. Evitar su liberación al medio ambiente. EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico en caso de malestar. EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Llamar a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico en caso de malestar. Eliminar el contenido y el recipiente de acuerdo con las normativas locales, regionales y nacionales. **Contiene:** azida de sodio; Ajustadores de T4 Libre

Para uso profesional.

Uso exclusivo por prescripción.



PRECAUCIÓN
La legislación federal de EE. UU. restringe la venta de este dispositivo a profesionales sanitarios o bajo orden de los mismos.

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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las cañerias de cobre y plomo.

Sustrato quimioluminiscente: evite la contaminación y exposición a la luz directa del sol (ver el prospecto).

Agua: Use 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 T4 Libre (L2FT412)
Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpo monoclonal de ratón anti-T4. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KFT42: 1 cartucho
L2KFT46: 3 cartuchos

Vial de reactivo de T4 Libre (L2FT4A2)
Con códigos de barras. 11,5 ml de fosfatasa alcalina (intestino de ternera) conjugada con T4 en solución tampón. Estable a 2-8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KFT42: 1 vial
L2KFT46: 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 T4 Libre (LFT4L, LFT4H)
Dos viales (bajo y alto) de T4 libre liofilizada en suero humano procesado con conservantes. Reconstituya cada vial con **2,0 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 (alicuotados) a –20°C.
L2KFT42: 1 juego
L2KFT46: 2 juegos

Antes de procesar adjustadores, 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: Substrato quimioluminiscente
L2PWSM: Lavado de sonda
L2KPM: Kit de limpieza de sonda
LRXT: Tubos de reacción (desechables)

También necesarios
Pipetas de transferencia de muestras; agua destilada o desionizada; controles

Ensayo

Aviso: para obtener un funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:
2 semanas

Control de Calidad: Seguir las reglamentaciones gubernamentales o los requisitos de acreditación para conocer la frecuencia de control de calidad.

Para monitorizar el funcionamiento del sistema y los gráficos de tendencia, como requisito mínimo, los materiales de control de calidad con al menos 2 niveles (bajo y alto) de T4 Libre deberían analizarse cada día que se procesen muestras. Las muestras de control de calidad deberían también analizarse cuando se realice un ajuste. Tratar todas las muestras de control de calidad del mismo modo que las muestras de pacientes.

Siemens Healthcare Diagnostics recomienda el uso de materiales de control, comercialmente disponibles, con al menos 2 niveles (bajo y alto). Un nivel de satisfacción en el funcionamiento se consigue cuando los valores del analito obtenidos están dentro del Rango de Control aceptable para el sistema, o dentro del rango establecido por el programa de control de calidad interno propio del laboratorio.

Si los resultados de control de calidad no están dentro de los Valores Esperados o dentro del rango establecido por el laboratorio, no reportar los resultados de pacientes. Seguir las siguientes acciones:

- Verificar que los materiales no estén caducados.
- Verificar que se haya realizado el mantenimiento del instrumento requerido.
- Verificar que el procedimiento se haya realizado de acuerdo con las Instrucciones de Uso.
- Ejecutar de nuevo el análisis con muestras frescas de control de calidad.
- Si es necesario, contactar con el proveedor de soporte técnico para solicitar asistencia.

Valores esperados

Adultos: Basado en su relación con el análisis FrT_4 ADVIA Centaur (ver la sección "Comparación de métodos"), se puede esperar que el análisis T4 libre IMMULITE 2000 tenga esencialmente los mismos rangos de referencia:

	Rango FT4 (ng/dl)	Rango FT4 (pmol/l)
Eutiroideo	0,89–1,76	11,5–22,7
Hipotiroideo	< 0,89	< 11,5
Hipertiroideo	> 1,76	> 22,7

Niños: Los intervalos de referencia de la población pediátrica (niños y adolescentes) para el ensayo IMMULITE T4 Libre se establecieron de acuerdo con el documento EP28-A3C del CLSI[12].

La población se dividió en tres subgrupos de edad para analizar los datos:

- Lactantes: sujetos de 1–23 meses de edad
- Niños: sujetos de 2–12 años de edad
- Adolescentes: sujetos de 13–20 años de edad

Se usó un abordaje no paramétrico para establecer los intervalos de referencia para niños y adolescentes, de los que se calcularon los percentiles 2,5 y 97,5 de distribución de los valores. Para la población de lactantes, Horn y Pesce desarrollaron una medida sólida de la localización y expansión que se usó para calcular los intervalos de referencia de los percentiles 2,5 y 97,5, lo que permite incluir el tamaño de muestra más pequeño[12, 13, 14].

Los intervalos de referencia detallados por grupo de edad y número de muestras se presentan en la tabla Intervalos de referencia.

Intervalos de referencia de IMMULITE 2000 T4 Libre para la población pediátrica

Grupo de edad	*n*	Convencional (ng/dl)	SI (pmol/l)
Lactantes (1–23 meses)	81	0,80–1,27	10,3–16,3
Niños (2–12 años)	197	0,74–1,28	9,5–16,5
Adolescentes (13–20 años)	148	0,75–1,27	9,7–16,3

Estos límites han de considerarse sólo como una *guía*. Cada laboratorio deberá establecer sus propios intervalos de referencia.

Limitaciones

La interpretación de los resultados de T4 Libre es complicada debido a la variedad de sustancias que pueden afectar a la unión de la T4 con las proteínas transportadoras de hormonas tiroideas o interferir en el metabolismo de la T3[4].

En enfermedades no tiroideas graves,el establecimiento del estado tiroideo se hace especialmente difícil. Así, algunos pacientes de esta categoría pueden padecer de hipotiroidismo primario concomitante o hipotiroidismo secundario compensatorio, se ha recomendado la determinación de TSH como test confirmatorio en este contexto[3].

En condiciones extrañas, asociadas a variaciones en la capacidad de unión de la albúmina con la T4 — como en la hipertiroxinemia disalbuminémica familiar (FDH) — los ensayos directos para hormonas tiroideas libres pueden originar resultados erróneos.

Los anticuerpos circulantes contra T4 y los inhibidores de la unión a la hormona pueden interferir.

Se han publicado efectos *in vivo* e *in vitro* de la heparina sobre los ensayos de T4

Libre. Por lo tanto, no se debe tomar muestras durante o inmediatamente después a la administración de este anticoagulante.

Debido a que el EDTA puede tener fectos significativos, no debe usarse este anticoagulante.

Los anticuerpos heterofílicos en el suero o plasma 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 procedimiento, consulte las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en ng/dl. (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/dl $\times$ 12,87 $\rightarrow$ pmol/l

Rango informable: 0,3–6 ng/dl (3,9–77,2 pmol/l)

El ensayo es trazable a un estándar interno fabricado usando procedimientos de medida y materiales cualificados.

Sensibilidad analítica: Límite del Blanco (valor máximo esperado de una muestra sin analito; determinado de acuerdo con CLSI EP17-A[7]): 0,11 ng/dl (1,42 pmol/l)

Límite de Detección (concentración mínima detectable; determinada de acuerdo con CLSI EP17-A[7]):
0,22 ng/dl (2,83 pmol/l)

Sensibilidad funcional: (concentración con el 20% de coeficiente de variación (CV) determinado de acuerdo con CLSI EP5-A2[8]): 0,31 ng/dl (3,99 pmol/l)

Precisión: Las muestras fueron procesadas por duplicado durante 20 días, en dos series al día, para un total de 40 series y 80 replicados. (Véase la tabla "Precisión".)

Especificidad: El anticuerpo es altamente específico para T4 libre. (Véase la tabla "Especificidad".)

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina conjugada y libre en concentraciones hasta 200 mg/l no tiene efecto en el análisis, dentro de la precisión del procedimiento.

Hemolisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 634 mg/dl no tiene ningún efecto sobre los resultados, dentro de la precisión del procedimiento.

Lipemia: La presencia de triglicéridos en concentraciones hasta 1000 mg/dl no tiene efecto alguno en los resultados, dentro de la precisión del procedimiento.

Tipos de Muestra alternativos: Para evaluar el efecto de otros tipos de muestra, se recogió sangre de 49 voluntarios en tubos vacutainer para suero, con heparina y SST Becton Dickinson de plástico. Diez de las muestras coincidentes se cargaron con distintas concentraciones de T4 para obtener valores dentro del rango informable del análisis y luego se analizaron mediante el procedimiento T4 Libre IMMULITE 2000.

(Heparina) = 1,05 (Suero) – 0,018 ng/dl
r = 0,989

(SST) = 1,04 (Suero) – 0,044 ng/dl
r = 0,997

Medias:
1,53 ng/dl (Suero)
1,59 ng/dl (Heparina)
1,55 ng/dl (SST)

Comparación de métodos: T4 Libre IMMULITE 2000 se ha comparado con FrT_4 ADVIA Centaur en 282 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente 0,3 a 5,2 ng/dl. Véase el gráfico.) Por regresión lineal:

(IMMULITE 2000) = 1,06 (Centaur) – 0,001 ng/dl
r = 0,981

Medias:
1,43 ng/dl (IMMULITE 2000)
1,35 ng/dl (Centaur)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

IMMULITE 2000 T4 Libre

Domaine d'utilisation : Ce test est réservé pour un usage diagnostique *in vitro* avec les systèmes IMMULITE® 2000, pour le dosage quantitatif de la thyroxine libre (T4 libre) dans le sérum et le plasma hépariné. Les dosages de la T4 libre sont utilisés pour diagnostiquer et traiter des pathologies thyroïdiennes.

Référence catalogue :
L2KFT42 (200 tests)
L2KFT46 (600 tests)

Code produit : **F4** Couleur : **vert fonce**

Introduction

La principale hormone thyroïdienne, la thyroxine (T4), circule presque entièrement sous forme liée à des protéines de transport, la plus affine étant la "thyroxine binding globulin" (TBG), dans un équilibre qui tend à se maintenir : dans le cas de taux modifiés de protéines de transport, une modification correspondante du taux total de T4 circulante est induite, laissant cependant le taux de T4 libre relativement inchangé. Par conséquent, la concentration de T4 libre est une meilleure indication de l'état thyroïdien que la concentration de T4 totale, un taux anormal de T4 totale pouvant être le signe soit d'une anomalie de la fonction thyroïdienne ou simplement d'une variation (physiologique ou pathologique) du taux de protéines de transport. Ainsi, par exemple, une augmentation de TBG connue au cours de la grossesse ou à la suite d'une contraception orale ou de la prise d'œstrogènes, conduira à une élévation du taux de T4 totale, souvent au-dessus des valeurs normales sans qu'il en résulte une élévation simultanée du taux de T4 libre.[1,2] Il faut signaler également que des modifications du taux de TBG masquent parfois les effets d'un dysfonctionnement thyroïdien par augmentation de T4 totale chez un patient hypothyroïdien – ou par diminution chez un patient hyperthyroïdien – dans l'intervalle des valeurs normales. Dans ce cas aussi, la concentration en T4 libre reflétera plus fidèlement l'état thyroïdien du patient que le taux de T4 totale.[3,4]

Principe du test

IMMULITE 2000 T4 Libre est une méthode d'immuno-analyse compétitive en phase solide utilisant la chimiluminescence, avec marquage enzymatique. La phase solide (bille) est revêtue d'un anticorps monoclonal murin anti-T4. La phase liquide consiste en de la phosphatase alcaline (intestin de veau) associée à de la T4.

L'échantillon provenant du patient et le réactif sont incubés avec la bille enrobée pendant 30 minutes. Pendant ce temps, la T4 libre contenue dans l'échantillon entre en concurrence avec la T4 associée à l'enzyme dans le réactif pour un nombre limité de sites de liaison de l'anticorps sur la bille. L'échantillon libre et le conjugué enzymatique sont alors retirés par des lavages en centrifugeuse. Enfin, le substrat chimiluminescent est ajouté au tube de réaction contenant la bille et le signal est généré proportionnellement vers l'enzyme liée.

L'IMMULITE 2000 T4 libre est un test direct, puisque les résultats ne sont pas calculés en fonction du taux de T4 totale, mais par interpolation à partir d'une courbe de calibration (mémorisée) établie à partir de concentrations de T4 libre.[6] À cet égard, il se différencie des soi-disant indices de détermination de T4 libre. Contrairement aux méthodes classiques de dialyses à l'équilibre, elle ne nécessite ni une étape de préincubation, ni une séparation de la fraction libre par dialyse ou chromatographie sur colonne.

Cycles d'incubation : 1 × 30 minutes
Temps de rendu du premier résultat : 35 minutes

Recueil des échantillons

Il est recommander de clarifier les échantillons lipémiques 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 dûs 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 T4 Libre IMMULITE 2000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles.

Volume nécessaire : 10 µl de sérum ou de plasma hépariné

Conservation : 2 jours à 2–8°C, ou 2 mois à –20°C.[1]

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.



AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL
Contient du matériel d'origine humaine. Chaque don de sang ou de composant sanguin humain a été testé selon des méthodes homologuées par la FDA afin de détecter la présence d'anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2), ainsi que la présence d'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) et d'anticorps anti-virus de l'hépatite C (VHC). Les résultats de ces tests se sont révélés négatifs (ou positifs mais de façon non répétable). Aucun test ne peut garantir totalement l'absence d'agents infectieux tels que ceux-ci ou d'autres. Par conséquent, ce matériel doit être manipulé conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux précautions universelles.[9-11]

ATTENTION : Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.



H302 + H312, H412

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

Avertissement ! Nocif en cas d'ingestion ou de contact cutané. Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. Éviter le rejet dans l'environnement. EN CAS D'INGESTION : Appeler un CENTRE ANTI-POISON ou un médecin en cas de malaise. EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. Éliminer les contenus et les contenants conformément à toutes les réglementations locales, régionales et nationales. **Contient :** azide de sodium ; Ajusteurs T4 libre

Réservé à un usage professionnel.

Pour utilisation sur ordonnance uniquement.



AVERTISSEMENT
Aux États-Unis, la loi fédérale n'autorise la vente de ce dispositif que sur ordre ou par un professionnel de la santé agréé.

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 la contamination et l'exposition directe au soleil (voir notice).

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 T4 libre (L2FT412)
Avec code-barres. 200 billes revêtues d'un anticorps monoclonal murin anti-T4. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KFT42 : 1 cartouche
L2KFT46 : 3 cartouches

Cartouche à réactif T4 libre (L2FT4A2)
Avec code-barres. 11,5 ml de phosphatase alcaline (intestin de veau) conjugués à un tampon de T4. Stable à 2–8°C jusqu'à la date d'expiration.
L2KFT42 : 1 cartouche
L2KFT46 : 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 T4 libre (LFT4L, LFT4H)
2 flacons d'ajusteurs (« haut » et « bas ») lyophilisés contenant de la T4 libre dans du sérum humain prétraité, avec conservateur. Reconstituer chaque flacon avec **2,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Mélanger en imprimant un léger mouvement circulaire ou en retournant délicatement jusqu'à complète dissolution de la substance lyophilisée. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après reconstitution, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KFT42 : 1 jeu
L2KFT46 : 2 jeux

Avant d'effectuer une calibration, 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 interne.

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
Pipettes de transfert d'échantillon ; eau distillée ou désionisée, contrôles

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000.

Voir le Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000 pour la préparation, le démarrage du système, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé :
2 semaines

Contrôle de qualité : Suivre les réglementations gouvernementales et les exigences relatives aux accréditations en matière de fréquence de contrôle qualité.

Afin de surveiller les performances du système et les tendances graphiques, il est recommandé, au minimum, de doser des échantillons de contrôle de qualité comprenant au moins 2 niveaux (bas et haut) de T4 Libre, chaque jour où des échantillons sont analysés. Les échantillons de contrôle de qualité doivent également être dosés lors de l'ajustement. Traiter tous les échantillons de contrôle de qualité de la même façon que les échantillons de patient.

Siemens Healthcare Diagnostics recommande d'utiliser des échantillons de contrôle de qualité disponibles dans le

commerce qui comprennent au moins 2 niveaux (bas et haut). Un niveau de performance satisfaisant est atteint lorsque les valeurs d'analyte obtenues se trouvent dans l'intervalle de contrôle acceptable du système ou dans un intervalle établi déterminé par un schéma de contrôle de qualité interne du laboratoire approprié.

Si les résultats du contrôle de qualité ne se trouvent pas dans les valeurs attendues ou dans l'intervalle établi par le laboratoire, ne pas communiquer les résultats du patient. Effectuer les actions suivantes :

- Vérifier que les échantillons ne sont pas périmés.
- Vérifier que les opérations de maintenance requises sur l'instrument ont bien été effectuées.
- Vérifier que le dosage a été réalisé conformément aux instructions d'utilisation.
- Répéter le dosage avec de nouveaux échantillons de contrôle de qualité.
- Si besoin est, contacter le fournisseur local pour obtenir une assistance.

Valeurs de référence

Population adulte : En se basant sur sa relation avec l'analyse ADVIA Centaur FrT_4 (Cf. Comparaison de méthodes), nous pouvons nous attendre à ce que l'IMMULITE 2000 T4 libre présente essentiellement les mêmes plages de référence :

	Plage T4 libre (ng/dl)	Plage T4 libre (pmol/l)
Euthyroïdie	0,89–1,76	11,5–22,7
Hypothyroïdie	< 0,89	< 11,5
Hyperthyroïdie	> 1,76	> 22,7

Population pédiatrique : les intervalles de référence pour la population pédiatrique (enfants et adolescents) ont été établis pour le test IMMULITE T4 libre conformément à la directive EP28-A3C du CLSI.[12]

Pour analyser les données, la population a été divisée en trois sous-groupes d'âge :

- Nourrissons : sujets âgés de 1–23 mois
- Enfants : sujets âgés de 2–12 ans
- Adolescents : sujets âgés de 13–20 ans

Une approche non paramétrique a été utilisée afin d'établir les intervalles de référence pour les enfants et adolescents pour lesquels les 2,5^{e} et 97,5^{e} percentiles de la distribution des valeurs ont été calculés. Comme la taille d'échantillon de la population des nourrissons est plus réduite, il a été utilisé une mesure robuste de la position et de la dispersion, telle qu'elle a été développée par Horn et Pesce, pour établir les intervalles de référence des 2,5^{e} et 97,5^{e} percentiles.[12, 13, 14]

Les intervalles de référence détaillés par groupe d'âge et par nombre d'échantillons sont indiqués dans le tableau des Intervalles de référence.

Intervalles de référence pour la population pédiatrique IMMULITE 2000 T4 libre

Groupe d'âge	*n*	Conventionnel (ng/dl)	SI (pmol/l)
Nourrissons (1–23 mois)	81	0,80–1,27	10,3–16,3
Enfants (2–12 ans)	197	0,74–1,28	9,5–16,5
Adolescents (13–20 ans)	148	0,75–1,27	9,7–16,3

Utiliser ces valeurs *à titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devra établir ses propres valeurs de référence.

Limites

L'interprétation des résultats de T4 libre est rendue difficile par le nombre important de médicaments pouvant modifier la fixation de T4 sur les protéines de transport ou interférer avec le métabolisme de la T3.[4]

En cas de pathologie grave non thyroïdienne, le diagnostic thyroïdien est rendu particulièrement difficile. En effet, certains patients dans ce cas peuvent souffrir d'une hypothyroïdie primaire concomitante ou d'une hypothyroïdie secondaire compensatrice. Dans ce

contexte, le dosage de TSH est recommandé comme test de confirmation.[3]

Dans de rares cas associés à des variations très importantes de la capacité de fixation de l'albumine pour la T4 — dysalbuminémie hyperthyroxinémique familiale (FDH) — les dosages directs d'hormones thyroïdiennes libres peuvent conduire à des résultats erronés

Les autoanticorps de T4 circulants et des inhibiteurs de fixation des hormones peuvent interférer sur le dosage.

Il a été démontré que l'héparine a des effets *in vivo* et *in vitro* sur les dosages de T4 libre. Les échantillons ne doivent donc pas être prélevés pendant ou juste après l'administration de cet anticoagulant.

Comme l'EDTA pourrait avoir un effet significatif sur les résultats, il ne doit pas être utilisé comme anticoagulant.

Les anticorps hétérophiles du sérum ou du plasma 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'historique 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/dl. (En l'absence d'indication contraire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques recueillis en tubes, sans gel ni activateur de la coagulation.)

Facteur de conversion :
ng/dl × 12,87 → pmol/l

Domaine de mesure : 0,3–6 ng/dl (3,9–77,2 pmol/l)

Le dosage peut être retracé à un standard interne, manufacturé à l'aide de matériaux et procédures de mensuration qualifiées.

Sensibilité analytique : Limite du blanc (valeur la plus élevée attendue pour un échantillon totalement négatif; déterminé en accord avec le CLSI EP17-A [7]): 0,11 ng/dl (1,42 pmol/l)

Limite de détection (concentration la plus basse détectable; déterminé en accord avec le CLSI EP17-A [7]): 0,22 ng/dl (2,83 pmol/l)

Sensibilité fonctionnelle : (concentration avec un coefficient de variation de 20% (CV) déterminé en accord avec CLSI EP5-A2[8]): 0,31 ng/dl (3,99 pmol/l)

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 ».)

Spécificité : l'anticorps utilisé est hautement spécifique de la T4 libre. (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 634 mg/dl.

Lipémie : La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 1000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

Autres types d'échantillons : afin d'évaluer les effets d'autres types d'échantillons, du sang a été prélevé sur 49 volontaires et placé dans des tubes Vacutainer en plastique Becton Dickinson SST héparinisés et sous vide d'air. Dix des échantillons comparés ont été étudiés en solution avec différentes concentrations de T4, afin d'obtenir des valeurs dans l'intégralité de la fourchette de l'analyse reportée ; ils sont ensuite analysés à l'aide de la procédure IMMULITE 2000 T4 libre.

(Héparine) = 1,05 (Sérum) – 0,018 ng/dl
r = 0,989

(SST) = 1,04 (Sérum) – 0,044 ng/dl
r = 0,997

Moyennes :
1,53 ng/dl (Sérum)
1,59 ng/dl (Héparine)
1,55 ng/dl (SST)

Comparaison de méthodes : le test IMMULITE 2000 T4 libre a été comparé au test ADVIA Centaur FrT_4 sur 282 échantillons (dont les concentrations allaient de 0,3 à 5,2 ng/dl environ. Voir graphique.) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 1,06 (Centaur) – 0,001 ng/dl
r = 0,981

Moyennes :
1,43 ng/dl (IMMULITE 2000)
1,35 ng/dl (Centaur)

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

Le Système Qualité de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. est certifié ISO 13485.

Italiano

IMMULITE 2000 T4 libera

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con gli analizzatori dei sistemi IMMULITE® 2000 per la misurazione quantitativa della tiroxina non legata alla proteina (T4 libera) in siero e plasma eparinizzato. Le misurazioni della T4 libera vengono utilizzate per la diagnosi e il trattamento delle patologie tiroidee.

Numero di Codice:
L2KFT42 (200 test)
L2KFT46 (600 test)

Codice del test: **F4** Colore: **Verde scuro**

Riassunto e spiegazione del Test

Il principale ormone tiroideo, la tiroxina (T4), circola quasi interamente legato alle proteine di trasporto la più importante delle quali è la thyroxine-binding globulin (TBG). Concentrazioni alterate di proteine di trasporto inducono cambiamenti nei livelli della T4 totale mentre le concentrazioni di T4 libera tendono a rimanere all'interno di un range ristretto. Per questo motivo, la determinazione della T4 totale non sempre riflette lo stato tiroideo. I livelli di TBG possono variare in seguito a condizioni fisiologiche diverse quali: gravidanza, assunzione di contraccettivi orali e terapia estrogenica.[1,2] I livelli di T4 totale possono aumentare al di sopra del range di normalità quando i livelli di T4 libera rimangono normali. Al contrario, pazienti che presentano una disfunzione tiroidea e livelli di TBG alterati, possono avere livelli normali di T4 totale mascherando in questo modo la malattia. Poiché livelli anormali di T4 possono significare sia un funzionamento anomalo della tiroide che una variazione della concentrazione della proteina di trasporto (fisiologica o patologica), la determinazione della T4 libera correla in maniera più significativa con lo stato tiroideo di quanto non lo faccia la determinazione della T4 totale.[3,4]

Principio del Dosaggio

IMMULITE 2000 T4 Libera è un immunodosaggio competitivo, in fase solida, in chemiluminescenza. La fase solida (biglia) è coattata con un anticorpo monoclonale di topo, specifico per la T4. La fase liquida è costituita da T4 coniugata con fosfatasi alcalina (da intestino di vitello).

Il campione del paziente ed il reagente vengono messi inincubazione insieme alla biglia coattata per 30 minuti. Durante questo tempo, la T4 libera presente nel campione compete con la T4 coniugata con l'enzima nel reagente per un numero limitato di siti leganti (anticorpi) presenti sulla biglia. Il campione del paziente e il coniugato enzimato non legati vengono lavati via attraverso lavaggi centrigughi. Infine, nella test unit contenente la biglia viene aggiunto il substrato chemiluminescente e si genera un segnale luminoso in base all'enzima legato.

Il dosaggio IMMULITE 2000 T4 Libera è un dosaggio diretto o singolo nel senso che i risultati non vengono calcolati in funzione della T4 totale, ma interpolati su un curva "master" (memorizzata) e calibrata in termini di concentrazioni di T4 libera.[6] Sotto questo aspetto si differenzia dalle cosidette determinazioni dell'indice

della T4 libera. Diversamente dai classici test di equilibrio per dialisi, non richiede nè una pre-incubazione né un trattamento preliminare di separazione della frazione libera attraverso dialisi o cromatografia della colonna.

Cicli di incubazione: 1 × 30 minuti
Tempo al Primo Risultato: 35 minuti

Raccolta dei campioni

E' raccomandata un'ultricentrifuga per eliminare 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 T4 Libera non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette.

Volume richiesto: 10 µL di siero o plasma eparinato.

Conservazione: 2 giorni a 2–8°C, o per 2 mesi a –20°C.[1]

Avvertenze e precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.



ATTENZIONE! POTENZIALE PERICOLO BIOLOGICO
Contiene materiale di origine umana. Ciascuna donazione di sangue o componenti ematici umani è stata testata con metodi approvati dalla FDA per rilevare la presenza di anticorpi al virus dell'immunodeficienza umana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2), nonché per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e gli anticorpi al virus dell'epatite C (HCV). I risultati del test sono stati negativi (non ripetutamente reattivi). Nessun test offre assicurazione completa che questi o altri agenti infettivi siano assenti; questo materiale va trattato utilizzando le corrette prassi di laboratorio e le precauzioni universali.[9-11]

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale portatore e trasmettitore di agenti patogeni.



H302 + H312, H412

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

Avvertenza! Nocivo se ingerito o a contatto con la pelle. Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. Indossare guanti/ indumenti protettivi/ Proteggere gli occhi/il viso. Non disperdere nell'ambiente. IN CASO DI INGESTIONE: In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTI-VELENI o un medico. IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTI-VELENI o un medico. Smaltire il prodotto e il contenitore in conformità con tutte le disposizioni locali, regionali e nazionali.
Contiene: sodio azide; Calibratori T4 Libera

Per uso professionale.

Solo per l'uso dietro prescrizione medica.

CAUTELA
La legge federale statunitense limita la vendita di questo dispositivo solo su richiesta di operatori sanitari abilitati.

Reagenti: Conservare a 2–8°C. Scartare in conformità alle leggi applicabili.

Seguire le precauzioni universali, e maneggiare tutti i componenti come se fossero capaci di trasmettere agenti infettivi. Sono stati analizzati i materiali di sorgente dal sangue umano e sono stati trovati non reattivi per sifilide; per anticorpi ad HIV 1 e 2; per l'antigeno superficiale dell'epatite B; e per anticorpi all'epatite C.

E' stata aggiunta Sodio Azide a concentrazioni inferiori a 0,1 g/dL come conservante. Al momento dell'eliminazione, irrorare con molta acqua per evitare la formazione di azidi metalliche potenzialmente esplosive nelle tubature di piombo e di rame.

Substrato Chemiluminescente: Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce del sole diretta (vedere l'inserimento).

Acqua: Utilizzare 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 T4 Libera (L2FT412)
Con codice a barre. 200 sferette coattate con un anticorpo monoclonale di topo anti-T4. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KFT42: 1 confezione
L2KFT46: 3 confezioni

Porta Reagente T4 Libera (L2FT4A2)
Con codice a barre. 11,5 mL di T4 coniugata con fosfatasi alcalina (da intestino di vitello) in tampone. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KFT42: 1 Porta Reagente
L2KFT46: 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.

Calibratori T4 Libera (LFT4L, LFT4H)
Due flaconi (Basso ed Alto), ciascuno con T4 libera liofila in siero umano processato, con conservanti. Ricostituire ogni flacone con **2,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Mescolare agitando delicatamente o capovolgendo la miscela finchè 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.
L2KFT42: 1 set
L2KFT46: 2 set

Prima di eseguire i calibratori ricalibrare collocare le etichette giuste sulle aliquote (fornite col kit) sulle provette 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
Pipette per il trasferimento dei campioni; acqua distillata o deionizzata; controlli

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per preparazione, messa a punto, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 2 settimane

Controllo di Qualità: Per la frequenza del controllo di qualità seguire le normative in vigore o i requisiti di accreditamento.

Per monitorare le prestazioni del sistema e la tendenza delle carte di Controllo, come requisito minimo, si consiglia di dosare giornalmente materiali di Controllo di Qualità con almeno 2 livelli di T4 libera (alto e basso). I campioni di controllo dovrebbero essere dosati ogni qualvolta si

esegue una calibrazione. Tutti i controlli di qualità devono essere trattati alla stregua dei campioni dei pazienti.

Siemens Healthcare Diagnostics raccomanda l'uso di materiali di Controllo di Qualità disponibili in commercio con almeno 2 livelli (alto e basso). Un livello soddisfacente di prestazione si raggiunge quando i valori in concentrazione dell'analita ottenuti sono all'inerno del range di accettabilità del Controllo per quel sistema o all'interno di un range stabilito in laboratorio in base ai valori ottenuti in un arco di tempo stabilito.

Se i risultati del Controllo di Qualità non cade all'interno del range dei valori attesi o al range stabilito dal laboratorio, non refertare i risultati dei pazienti. Procedere come segue:

- Verificare che i materiali non siano scaduti.
- Verificare che la manutenzione strumentale richiesto venga regolarmente eseguita.
- Verificare che il dosaggio sia eseguito secondo le istruzioni.
- Rieseguire il test con campioni di Controllo Qualità freschi.
- Se necessario, contattare il Servizio di Assistenza Tecnica.

Valori Attesi

Popolazione adulta: In base ai confronti effettuati con il dosaggio ADVIA Centaur FrT_4 (Vedere Confronto fra Metodi), IMMULITE 2000 T4 Libera ci si aspetta di avere pressochè gli stessi range di riferimento:

	Range FT4 (ng/dL)	Range FT4 (pmol/L)
Eutiroidei	0,89–1,76	11,5–22,7
Ipotiroidei	< 0,89	< 11,5
Ipertiroidei	> 1,76	> 22,7

Popolazione pediatrica: sono stati stabiliti gli intervalli di riferimento per la popolazione pediatrica (bambini e adolescenti) per il dosaggio IMMULITE T4 libera in conformità alle linee guida CLSI EP28-A3C.[12]

Per l'analisi dei dati, la popolazione è stata divisa in tre sottogruppi in base all'età:

- Neonati: pazienti con età 1–23 mesi
- Bambini: pazienti con età 2–12 anni
- Adolescenti: pazienti con età 13–20 anni

È stato utilizzo un approccio non parametrico per stabilire gli intervalli di riferimento per bambini e adolescenti quando sono stati calcolati i percentili 2,5 e 97,5 della distribuzione dei valori. Per la popolazione infantile, è stata utilizzata una misura robusta della posizione e della diffusione sviluppata da Horn e Pesce per la stima degli intervalli di riferimento dei percentili 2,5 e 97,5, con il ridimensionamento del campione più piccolo.[12, 13, 14]

Gli intervalli di riferimento forniti in dettaglio in base ai gruppi di età e numeri di campioni possono essere osservati nella tabella Intervalli di riferimento.

Intervalli di riferimento pediatrici di IMMULITE 2000 T4 libera

Gruppo di età	*n*	Convenzionale (ng/dL)	SI (pmol/L)
Neonati (1–23 mesi)	81	0,80–1,27	10,3–16,3
Bambini (2–12 anni)	197	0,74–1,28	9,5–16,5
Adolescenti (13–20 anni)	148	0,75–1,27	9,7–16,3

Considerare questi limiti soltanto come *linee guida*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i proprii range di riferimento.

Limiti

L'interpretazione dei risultati di T4 libera può essere alterata da una serie di farmaci che interferiscono con il legame della T4 alle proteine carrier dell'ormone tiroideo o interferiscono con il suo metabolismo verso la T3.[4]

In malattie non tiroidee gravi, la diagnosi dello stato tiroideo diventa particolarmente difficile. Poiché alcuni pazienti in questa categoria possono soffrire di ipotiroidismo primario concomitante o di ipotiroidismo secondario compensatorio, si consiglia il dosaggio del TSH come test di conferma.[3]

In rare condizioni associate con variazioni estreme nella capacità legante dell'albumina alla T4, quali l'Ipertirossinemia Disalbuminica Familiare (FDH), i dosaggi dell'ormone tiroideo libero diretto possono dare risultati fuorvianti.

Possono interferire anche autoanticorpi circolanti anti T4 e inibitori ormone-leganti.

Si è verificato che l'eparina può avere effetti *in vivo* ed *in vitro* sui dosaggi della T4 libera. Di conseguenza i campioni non devono essere prelevati durante o subito dopo la somministrazione di anticoagulanti.

Poichè l'EDTA ha un effetto significativo sui risultati, non deve essere utilizzato come anticoagulante.

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero nel plasma 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/dL. (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.)

Fattore di Conversione:
ng/dL $\times$ 12,87 $\rightarrow$ pmol/L

Range di Riferimento: 0,3–6 ng/dL (3,9–77,2 pmol/L)

Il dosaggio è standardizzato verso uno standard interno preparato usato con materiali e secondo procedure di qualità.

Sensibilità analitica: Limite di Bianco (valore più alto atteso per un campione in assenza di analita; determinato secondo CLSI EP17-A[7]): 0,11 ng/dL (1,42 pmol/L)

Limite di Rilevazione (concentrazione più bassa rilevabile; determinata secondo CLSI EP17-A[7]): 0,22 ng/dL (2,83 pmol/L)

Sensibilità Funzionale: (concentrazione con 20% coefficiente di variazione (CV) determinato secondo CLSI EP5-A2[8]): 0,31 ng/dL (3,99 pmol/L)

Precisione: I campioni sono stati elaborati in doppio da 20 giorni, due esecuzioni al giorno, per un totale di 40 esecuzioni e 80 ripetizioni. (Vedere la tabella "Precisione".)

Specificità: L'anticorpo è molto specifico per T4 libera. (Vedere la tabella "Specificità".)

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 634 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Lipemia: La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 1000 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Tipo di Campione Alternativo:
Per stabilire l'effetto di tipi di campioni alternativi, il sangue è sttao prelevato da 49 volontari in provette lisce, eparinate e in vacutainer di plastica Becton Dickinson SST. A dieci campioni sono state aggiunte concentrazioni diverse di T4, per ottenere valori tali da coprire il range di lavoro del dosaggio, e poi dosati con il kit IMMULITE 2000 T4 Libera.

(Eparina) = 1,05 (Siero) – 0,018 ng/dL
r = 0,989

(SST) = 1,04 (Siero) – 0,044 ng/dL
r = 0,997

Valore medio:
1,53 ng/dL (Siero)
1,59 ng/dL (Eparina)
1,55 ng/dL (SST)

Confronto fra Metodi: Il dosaggio IMMULITE 2000 T4 Libera è stato confrontato al dosaggio ADVIA Centaur FrT_4 su 282 campioni di pazienti. (Gamma di concentrazione: da 0,3 a 5,2 ng/dL circa. Vedere il grafico.) Mediante regressione lineare:

(IML 2000) = 1,06 (Centaur) – 0,001 ng/dL
r = 0,981

Valore medio:
1,43 ng/dL (IMMULITE 2000)
1,35 ng/dL (Centaur)

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore Nazionale.

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

T4 Livre

Utilização: Para diagnóstico *in vitro* com os Sistemas Analisadores IMMULITE® 2000 — para o doseamento quantitativo da tiroxina não-ligada à proteína (T4 livre) no soro e plasma heparinizado. As medições da T4 livre são utilizadas no diagnóstico e tratamento de doenças da tiróide.

Números de catálogo:
L2KFT42 (200 testes)
L2KFT46 (600 testes)

Código do teste: **F4** Cor: **Verde escuro**

Sumário e explicação do teste

A principal hormona da tiróide, a tiroxina (T4), circula na quase totalidade ligada às proteínas de transporte, sendo a mais importante a globulina de transporte das hormonas tirodeias (thyroxine-binding globulin-TBG). Concentrações alteradas das proteínas de transporte induzem alterações nos níveis circulantes de T4, havendo tendência para os níveis de T4 livre se manterem dentro de limites estreitos. Por esta razão, os doseamentos do T4 total nem sempre reflectem o verdadeiro estado da tiróide. Os níveis de TBG variam de acordo com várias situações fisiológicas como, por exemplo, durante a gravidez, com a utilização de contraceptivos orais e na terapia com estrogénios[1,2]. Os níveis de T4 total podem ultrapassar os valores normais enquanto o T4 livre permanece normal. Por outro lado os doentes com disfunção da glândula da tiróide e níveis alterados de TBG podem ter valores normais de T4 total enganadores. Uma vez que níveis alterados de T4 total podem indicar uma alteração da função tiroideia ou uma variação fisiológica ou patológica das proteínas de transporte, os doseamentos de T4 livre correlacionam-se melhor com a função tiroideia do que os doseamentos de T4 total[3,4].

Princípio do Procedimento

O ensaio de T4 livre no IMMULITE 2000 é um imunoensaio quimioluminescente competitivo de fase sólida com enzima marcada. A fase sólida (esfera) está revestida com anticorpo monoclonal murino anti T4. A fase líquida consiste em fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugado a T4.

A amostra de doente e o reagente são incubados juntos com as esferas revestidas durante 30 minutos. Durante este periodo o T4 Livre na amostra compete com a enzima conjugada com T4 no reagente para um limitado número de sites de ligação ao anticorpo na esfera. A amostra não ligada e a enzima conjugada são então removidas por centrifugação por lavagem centrífugas. Finalmente é adicionado o substrato quimioluminescente à unidade de teste contendo a esfera gerando um sinal proporcional à enzima ligado.

O teste de T4 livre do IMMULITE 2000 é um teste directo na medida em que os resultados não são calculados em função dos valores de T4 total, mas por interpolação na curva de calibração armazenada, executada a partir de padrões com concentração de T4 livre conhecida[6]. Assim, difere das chamadas determinações de Index de T4 livre. Ao contrário dos clássicos metodos de equilibrio por diálise, não requerendo uma pré-incubação nem um isolamento da fracção livre por diálise ou cromatografia.

Ciclos de incubação: 1 × 30 minutos
Tempo para o Primeiro Resultado: 35 minutos

Colheita

Uma ultracentrífugação é recomendada para clarificar 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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 T4 Livre não foram ainda testados com todas as possiveis variações originadas pelos tipos de tubos.

Volume de Amostra: 10 µL de soro ou plasma heparinizado

Estabilidade: 2 dias a 2–8°C, ou 2 meses a –20°C[1].

Precauções

Para uso no diagnóstico *in vitro*.



PRECAUÇÃO! POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO
Contém material de origem humana. Cada dádiva de sangue ou componente de sangue humano foi testada pelos métodos aprovados pela FDA quanto à presença de anticorpos dos vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e tipo 2 (VIH-2), bem como do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e dos anticorpos do vírus da hepatite C (VHC). Os resultados dos testes foram negativos (não repetidamente reativos). Nenhum teste oferece total garantia de que estes ou outros agentes infeciosos estejam ausentes; este material deve ser manuseado de acordo com as boas práticas laboratoriais e precauções universais.[9-11]

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.



H302 + H312, H412

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

Aviso! Nocivo por ingestão ou contacto com a pele. Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. Usar luvas de protecção/ vestuário de protecção/ protecção ocular/ protecção facial. Evitar a libertação para o ambiente. EM CASO DE INGESTÃO: Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. Eliminar o conteúdo e o recipiente em conformidade com todos os regulamentos locais, regionais e nacionais.
Contém: azida de sódio; Ajustes T4 Livre

Para utilização profissional.

Apenas para utilização mediante receita médica.



PRECAUÇÃO
A lei federal (EUA) limita a venda deste dispositivo a um profissional de cuidados de saúde qualificado ou mediante a sua prescrição.

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.

A azida sódica foi adicionada como conservante a concentrações inferiores a 0,1 g/dL. Quando eliminar o produto, utilize água em abundância para evitar a acumulação de azidas metálicas potencialmente explosivas nas canalizações de chumbo e cobre.

Substrato quimioluminescente: Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula do substrato).

Água: Use água destilada ou deionizada.

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 esferas de T4 Livre (L2FT412)
Com código de barras. Contém 200 esferas revestidas com anticorpo monoclonal de rato anti-T4. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KFT42: 1 embalagem
L2KFT46: 3 embalagens

Embalagem de Reagente de T4 Livre (L2FT4A2)
Com código de barras. 11,5 mL de fosfatase alcalina (intestino de vitela) conjugado a T4 em tampão. Estável a 2–8°C até à data de expiração.
L2KFT42: 1 embalagem
L2KFT46: 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 T4 Livre (LFT4L, LFT4H)
Contém dois frascos (nível alto e baixo) de T4 livre liofilizado, em soro humano processado com conservante. Reconstitua cada frasco com **2,0 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.

L2KFT42: 1 conjunto
L2KFT46: 2 conjuntos

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas de alíquota apropriadas (fornecidas com o "kit") em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente

L2SUBM: Substrato quimioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Kit de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)

Também necessário
Pipetas de transferência de amostra; água destilada ou desionizada; controlos

Procedimento de doseamento

Ter em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000.

Consultar o Manual do Operador dos sistemas IMMULITE 2000 relativamente às instruções de preparação, instalação, rectificação, ensaio e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável: 2 semanas

Controlo de Qualidade: Observe os regulamentos governamentais ou os requisitos de acreditação quanto à frequência do controlo de qualidade.

De modo a monitorizar o desempenho do sistema e as cartas de controlo, como condições mínimas, deverão ser utilizados materiais de controlo de qualidade de T4 Livre com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) no mesmo dia em que as amostras são analisadas. Amostras de controlo de qualidade devem também ser ensaiadas quando se executa o ajuste. Tratar todas as amostras de controlo de qualidade como amostras de doentes.

A Siemens Healthcare Diagnostics recomenda o uso de materiais de controlo de qualidade comercialmente disponíveis, com pelo menos dois níveis (baixo e alto). Um nível satisfatório de desempenho é alcançado quando os valores do analito

obtidos estão dentro da margem ajustável do controlo no sistema ou dentro da margem estabelecida num esquema de controlo de qualidade laboratorial interno.

Se os resultados do controlo de qualidade não reportarem dentro dos valores espectáveis ou dentro das margens estabelecidas pelo laboratório, não de deverão reportar os resultados dos doentes. Tomar as seguintes acções:

- Verificar que os materiais não estão expirados
- Verificar que a manutenção requerida do instrumento foi executada
- Verificar que o ensaio foi executado de acordo com as instruções de uso
- Voltar a executar o ensaio com amostras frescas de controlo de qualidade
- Se necessário, contactar o apoio do serviço técnico para assistência

Valores de Referência

Adulto: Baseado na comparação com o ensaio de T4 livre do ADVIA Centaur (ver metodo de comparação), pode-se esperar os mesmos valores de referência para o ensaio de T4 livre no IMMULITE 2000:

	T4 livre (ng/dL)	T4 livre (pmol/L)
Eutiroide	0,89–1,76	11,5–22,7
Hipotiroide	< 0,89	< 11,5
Hipertiroide	> 1,76	> 22,7

Pediátrico: Os intervalos de referência para a população pediátrica (crianças e adolescentes) foram estabelecidos para o ensaio IMMULITE T4 Livre em conformidade com a norma EP28-A3C do CLSI[12].

Para fins de análise dos dados, a população foi dividida em três subgrupos etários:

- Bebés: indivíduos com idades entre 1–23 meses
- Crianças: indivíduos com idades entre 2–12 anos
- Adolescentes: indivíduos com idades entre 13–20 anos

Foi utilizada uma abordagem não paramétrica para estabelecer os intervalos de referência para as crianças e adolescentes, tendo sido calculados os percentis 2,5 e 97,5 da distribuição dos valores. Para a população de bebés, foi utilizada uma medida robusta de posição e dispersão, conforme desenvolvida por Horn e Pesce, para calcular os intervalos de referência do percentil 2,5 e 97,5, para acomodar um tamanho de amostra mais pequeno[12, 13, 14].

Os intervalos de referência detalhados por grupo etário e número de amostras são apresentados na tabela de Intervalos de referência.

Intervalos de referência pediátricos para IMMULITE 2000 T4 Livre

Grupo etário	*n*	Convencional (ng/dL)	SI (pmol/L)
Bebés (1–23 meses)	81	0,80–1,27	10,3–16,3
Crianças (2–12 anos)	197	0,74–1,28	9,5–16,5
Adolescentes (13–20 anos)	148	0,75–1,27	9,7–16,3

Considere estes limites apenas como *directrizes*. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores de referência.

Limitações

Existe uma multiplicidade de drogas que, ao afectar a ligação da T4 às proteínas de transporte ou interferindo com a transformação metabólica da T4 em T3, dificultam a interpretação dos resultados de T4 Livre[4].

Na doença severa não tiroideia, a avaliação do estado da tiróide torna-se particularmente difícil uma vez que alguns doentes, nestas condições, poderão vir a sofrer de hipotiroidismo primário concomitante ou de hipotiroidismo secundário compensatório. O teste de TSH tem sido recomendado, neste contexto, como um teste confirmatório[3].

Em situações raras associadas a grandes variações da capacidade de ligação da albumina à T4 como, por exemplo, a hipertiroxinemia desalbumínica hereditária (familial dysalbuminemic hyperthyroxinemia — FDH), os ensaios de medição directa da hormona tiroideia livre podem conduzir a resultados erróneos.

Os auto-anticorpos para T4, e os inibidores de ligação de hormonas podem interferir.

Foram reportados efeitos *in vivo* e *in vitro* nos ensaios de doseamento do T4 livre em presença da heparina. Deste modo, as amostras não devem ser colhidas durante, ou logo após, a administração deste anticoagulante.

Como o EDTA teria um efeito significativo nos resultados, não deve ser usado como anticoagulante.

Os anticorpos heterófilicos no soro ou plasma humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes no ensaio, causando interferência com os imunoensaios *in vitro*. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34:27-33.] Amostras de doentes expostas em rotina a produtos ou soros de animais podem demonstrar este tipo de interferência, potencial causador de resultados anómalos. Estes reagentes foram formulados para minimizar o risco de interferência, contudo podem ocorrer potenciais interacções entre soros (raros) e componentes do teste. Para fins de diagnóstico, os resultados obtidos neste ensaio devem ser sempre analisados em combinação com o exame clínico, história de medicação do doente e outros achados que possam correlacionar.

Características do Ensaio

Consulte Tabelas e Gráficos para dados *representativos* do desempenho do doseamento. Os resultados são apresentados em ng/dL. (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/dL × 12,87 → pmol/L

Zona de Trabalho: 0,3–6 ng/dL (3,9–77,2 pmol/L)

O ensaio é monitorizado com padrão interno feito com materiais qualificados e procedimentos de medição.

Sensibilidade Analítica: Limites de Brancos (os valores mais altos esperados para uma amostra sem analito, determinada de acordo com a CLSI EP17-A[7]): 0,11 ng/dL (1,42 pmol/L)

Limite de Detecção (menor concentração determinada de acordo com a CLSI EP17-A[7]): 0,22 ng/dL (2,83 pmol/L)

Sensibilidade Funcional: (concentração com 20% de coeficiente de variação (CV) determinado de acordo com a CLSI EP5-A2[8]): 0,31 ng/dL (3,99 pmol/L)

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 "Precisão".)

Especificidade: O doseamento é específico para T4 livre. (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.

Hemolise: A presença de hemoglobina em concentrações até 634 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipemia: A presença de trigliceridos em concentrações até 1000 mg/dL não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Tipo de amostra alternativa: de modo a verificar alternativa de tipos de amostras foi colhido sangue em 49 voluntários para tuibos lisos, heparinizados e tubos de plástico Becton Dickinson SST. Dez das amostras foram adicionadas com várias concentrações de T4 de modo a obter valores dentro da zona reportada do ensaio, sendo depois analisadas pelo ensaio de T4 Livre IMMULITE 2000.

(Heparina) = 1,05 (Soro) – 0,018 ng/dL
r = 0,989

(SST) = 1,04 (Soro) – 0,044 ng/dL
r = 0,997

Médias:
1,53 ng/dL (Soro)
1,59 ng/dL (Heparina)
1,55 ng/dL (SST)

Comparação de Métodos: O doseamento do IMMULITE 2000 T4 Livre foi comparado ao ADVIA Centaur FrT_4 em 282 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 0,3 a 5,2 ng/dL. Consulte o gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 1,06 (Centaur) – 0,001 ng/dL
r = 0,981

Médias:
1,43 ng/dL (IMMULITE 2000)
1,35 ng/dL (Centaur)

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE is a trademark of
Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2018 Siemens Healthcare Diagnostics.
All rights reserved.

Made in: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

CE

2018-03-15

PIL2KFT4 – 11

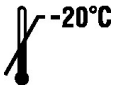
cc#EU23262, cc#EU23262A

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol	Definition
IVD	**En:** *In vitro* diagnostic medical device **De:** Medizinisches Gerät zur *In-vitro* Diagnose **Es:** Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro* **Fr:** Dispositif médical de diagnostic *in vitro* **It:** Dispositivo medico per diagnostica *in vitro* **Pt:** Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
REF	**En:** Catalog Number **De:** Katalognummer **Es:** Número de referencia **Fr:** Numéro de référence catalogue **It:** Codice catalogo **Pt:** Número de catálogo
	En: Manufacturer **De:** Hersteller **Es:** Fabricante **Fr:** Fabricant **It:** Produttore **Pt:** Fabricante
EC REP	**En:** Authorized Representative in the European Community **De:** Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union **Es:** Representante autorizado en la Unión Europea **Fr:** Représentant agréé pour l'Union européenne **It:** Rappresentante autorizzato nella Comunità europea **Pt:** Representante Autorizado na Comunidade Europeia
CE	**En:** CE Mark **De:** CE-Kennzeichen **Es:** Marca CE **Fr:** Marque CE **It:** Marchio CE **Pt:** Marca CE
CE 0088	**En:** CE Mark with identification number of notified body **De:** CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle **Es:** Marca CE con número de identificación del organismo notificado **Fr:** Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié **It:** Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato **Pt:** Marca CE, com número de identificação do organismo notificado

Symbol	Definition
	**En:** Consult instructions for use **De:** Bedienungshinweise beachten **Es:** Consulte las instrucciones de uso **Fr:** Consulter le mode d'emploi **It:** Consultare le istruzioni per l'uso **Pt:** Consulte as instruções de utilização
	**En:** Caution! Potential Biohazard **De:** Vorsicht! Biologisches Risikomaterial **Es:** ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial **Fr:** Avertissement ! Risque biologique potentiel **It:** Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico **Pt:** Atenção! Potenciais Riscos Biológicos
	**En:** Temperature limitation (2–8°C) **De:** Temperaturgrenze (2–8°C) **Es:** Limitación de temperatura (2–8°C) **Fr:** Limites de température (2–8°C) **It:** Limiti di temperatura (2–8°C) **Pt:** Limites de temperatura (2–8°C)
	**En:** Upper limit of temperature (≤ -20°C) **De:** Obere Temperaturgrenze (≤ -20°C) **Es:** Límite superior de temperatura (≤ -20°C) **Fr:** Limite supérieure de température (≤ -20°C) **It:** Limite superiore di temperatura (≤ -20°C) **Pt:** Limite máximo de temperatura (≤ -20°C)
	**En:** Lower limit of temperature (≥ 2°C) **De:** Mindesttemperatur (≥ 2°C) **Es:** Límite inferior de temperatura (≥ 2°C) **Fr:** Limite inférieure de température (≥ 2°C) **It:** Limite inferiore di temperatura (≥ 2°C) **Pt:** Limite mínimo de temperatura (≥ 2°C)
	**En:** Do not freeze (> 0°C) **De:** Nicht einfrieren (> 0°C) **Es:** No congelar (> 0°C) **Fr:** Ne pas congeler (> 0°C) **It:** Non congelare (> 0°C) **Pt:** Não congelar (> 0°C)

Symbol	Definition
	**En:** Do not reuse **De:** Nicht zur Wiederverwendung **Es:** No reutilizar **Fr:** Ne pas réutiliser **It:** Non riutilizzare **Pt:** Não reutilizar
	**En:** Keep away from sunlight **De:** Vor Sonneneinstrahlung schützen **Es:** Proteger de la luz solar **Fr:** Maintenir hors de portée de la lumière du soleil **It:** Non esporre alla luce del sole **Pt:** Manter afastado da luz solar
	**En:** Batch code **De:** Chargenbezeichnung **Es:** Número de lote **Fr:** Numéro de code du lot **It:** Codice lotto **Pt:** Código de lote
	**En:** Contains sufficient for (n) tests **De:** Es reicht für (n) Tests **Es:** Contiene suficiente para (n) pruebas **Fr:** Contient du matériel suffisant pour (n) tests **It:** Contiene materiale sufficiente per (n) test **Pt:** Contém o suficiente para (n) testes
2008-01	**En:** Date format (year-month) **De:** Datumsformat (Jahr-Monat) **Es:** Formato de fecha (año-mes) **Fr:** Format de la date (année-mois) **It:** Formato data (anno-mese) **Pt:** Formato de data (ano-mês)
	**En:** Use by **De:** Verwendbar bis **Es:** Fecha de caducidad **Fr:** A utiliser avant **It:** Usare entro **Pt:** Usar até
	**En:** Health Hazard **De:** Gesundheitsgefährdung **Es:** Peligro para la salud **Fr:** Dangereux pour la santé **It:** Pericolo per la salute **Pt:** Perigo para a saúde
	**En:** Exclamation Mark **De:** Ausrufezeichen **Es:** Signo de exclamación **Fr:** Point d'exclamation **It:** Punto esclamativo **Pt:** Ponto de exclamação

Symbol	Definition
	**En:** Corrosion **De:** Korrosion **Es:** Corrosión **Fr:** Corrosion **It:** Corrosione **Pt:** Corrosão
	**En:** Skull and Crossbones **De:** Totenkopf mit gekreuzten Knochen **Es:** Calavera y tibias cruzadas **Fr:** Tête de mort sur tibias croisés **It:** Teschio e tibie incrociate **Pt:** Caveira sobre tíbias cruzadas
	**En:** Environment **De:** Umwelt **Es:** Medio ambiente **Fr:** Environnement **It:** Ambiente **Pt:** Ambiente
BEAD PACK	**En:** Bead Pack **De:** Kugel-Container **Es:** Cartucho de bolas **Fr:** Cartouche de billes **It:** Contenitore di biglie **Pt:** Embalagem de esferas
TEST UNIT	**En:** Test Unit **De:** Testeinheit **Es:** Unidades de análisis **Fr:** Unité de test **It:** Test Unit **Pt:** Unidades de Teste
REAG WEDGE **REAG WEDGE A** **REAG WEDGE B** **REAG WEDGE D**	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo

Symbol	Definition
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Probenverdünnungs-reagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL **CONTROL 1** **CONTROL 2** **CONTROL 3**	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo

Symbol	Definition
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungslösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN
Rx Only	**En:** Prescription Device (US Only) **De:** Verschreibungspflichtiges Medizinprodukt (nur USA) **Es:** Dispositivo con prescripción (solo EE. UU.) **Fr:** Dispositif sur ordonnance (États-Unis uniquement) **It:** Dispositivo su prescrizione (solo USA) **Pt:** Dispositivo sujeito a receita médica (apenas EUA)

IMMULITE® 2000

FSH

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 FSH

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the quantitative measurement of FSH in serum, as an aid in the diagnosis and treatment of pituitary and gonadal disorders.

Catalog Number: **L2KFS2** (200 tests), **L2KFS6** (600 tests)

Test Code: **FSH** Color: **Light Gray**

Summary and Explanation

Follicle stimulating hormone (follitropin, FSH) is secreted by the β-cells of the anterior pituitary under the control of the gonadotropin releasing hormone produced in the hypothalamus. FSH facilitates the development and maintenance of gonadal tissues, which synthesize and secrete steroid hormones. Circulating levels of FSH are controlled by a negative feedback mechanism on the hypothalamus by steroidal hormones. Although FSH and LH are required for normal sexual function in both males and females, the secretory patterns are very different for the two sexes.

In mature females, FSH initiates the growth and development of ovarian follicles. During ovulation, when the follicle is ruptured, the follicle, now called the corpus luteum, secretes estradiol and progesterone, which control the circulating levels of FSH by a negative feedback effect on the hypothalamus. In menopause, with diminished ovarian function, there is a resulting decrease in estradiol secretion. Due to the lack of a negative feedback effect, with diminished estradiol, the circulating FSH levels become significantly increased.

In the mature male, FSH is associated with the stimulation and maintenance of spermatogenesis. Testosterone and estradiol have the role of providing the negative feedback signal to the hypothalamus for controlling the release of FSH. Infertility in males may be due to hypogonadism as a result of primary testicular failure. Testicular failure may be functional failure to mature, or a result of germ cell damage. Whatever the etiology, the conditions of hypogonadism have the net result of dramatically raising the circulating FSH levels, due to the lack of a negative feedback effect.

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 FSH is a solid-phase, two-site chemiluminescent immunometric assay.

Incubation Cycles: 1 × 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.

EDTA plasma should not be used as a sample type.

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 FSH 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: 50 µL serum

Storage: 7 days at 2–8°C, or 2 months at –20°C.

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.



CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD
Contains human source material. Each donation of human blood or blood component was tested by FDA-approved methods for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) as well as for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis C virus (HCV). The test results were negative (not repeatedly reactive). No test offers complete assurance that these or other infectious agents are absent; this material should be handled using good laboratory practices and universal precautions.[15-17]

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.

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.

FSH Bead Pack (L2FS12)
With barcode. 200 beads, coated with monoclonal murine anti-FSH. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KFS2: 1 pack **L2KFS6:** 3 packs

FSH Reagent Wedge (L2FSA2)
With barcode. 11,5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to murine monoclonal anti-FSH antibody in buffer, with preservative. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KFS2: 1 wedge **L2KFS6:** 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.

FSH Adjustors (LFSL, LFSH)
Two vials (Low and High), 3.0 mL each, of FSH in a nonhuman serum matrix, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C
L2KFS2: 1 set **L2KFS6:** 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

FSH Sample Diluent (L2FSZ)
For the on-board dilution of high samples. 25 mL of concentrated (ready-to-use) FSH-free nonhuman serum matrix, with preservative. Storage: 30 days (after opening) at 2–8°C or 6 months (aliquotted) at –20°C. Dispose of in accordance with applicable laws.

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.
L2FSZ: 3 labels

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate
L2PWSM: Probe Wash
L2KPM: Probe Cleaning Kit
LRXT: Reaction Tubes (disposable)
L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

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 Systems Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual for preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval: 4 weeks

Quality Control Samples: Follow government regulations or accreditation requirements for quality control frequency.

Use controls or serum pools with at least two levels (low and high) of FSH.

Siemens Healthcare Diagnostics recommends the use of commercially available quality control materials with at least 2 levels (low and high). A satisfactory level of performance is achieved when the analyte values obtained are within the Acceptable Control Range for the system, or within an established range determined by an appropriate internal laboratory quality control scheme.

Expected Values

Based on its relationship to IMMULITE FSH (mono/poly) assay (see Method Comparison 2), the assay can be expected to have essentially the same reference ranges.

Reference ranges were generated using IMMULITE FSH (mono/poly) in a multi-national study involving women in apparent good health (age: 16–44 years), who volunteered to have blood samples drawn, on a daily basis, throughout one complete ovulatory cycle. (Also see "Menstrual Cycle" Graph in Tables and Graphs section.)

		FSH, mIU/mL	
Ovulatory Cycles	*n**	Median	Central 95%
Follicular Phase	54 (762)	6.2	2.8–11.3
Follicular Phase, Days 2 to 3	54 (108)	6.6	3.0–14.4
Midcycle	54 (54)	13.6	5.8–21
Luteal Phase	54 (604)	3.4	1.2–9.0

*Number of subjects (total number of results)

The table below summarizes results for adult males and (untreated) postmenopausal females from studies with IMMULITE FSH (mono/poly). The ranges for women on oral contraceptives and for postmenopausal women on ERT are based on the IMMULITE FSH assay's relationship to Coat-A-Count® FSH IRMA.

		FSH, mIU/mL	
Group	*n*	Median	Central 95%
Adult Males	135	3.8	0.7–11.1
Adult Females:			
Postmenopausal*	76	90.5	21.7–153
Postmenopausal (ERT)	16	27	9.7–111
Oral Contraceptives	12	1.7	ND–4.9

*Preliminary ND: not detectable

A cross-sectional study of pediatric fertility values performed with IMMULITE FSH (mono/poly) at a "wellness" clinic in the southwestern United States yielded the following results.

			FSH, mIU/mL	
Group	Age (yr)	*n*	Median	Central 95%
Females	Cord	30	ND	
	0.1–3	57	2.3	0.11–13
	4–9	28	0.8	0.11–1.6
Males	Cord	37	0.24	ND–1.2
	0.1–3	72	0.6	ND–5.5
	4–9	31	0.23	ND–1.9
Combined	Cord	67	0.11	ND–1.1
	0.1–3	129	1.1	ND–10
	4–9	59	0.5	ND–1.8

ND: not detectable

Pediatric: Reference intervals for the pediatric population (children and adolescents) were established for the IMMULITE FSH assay in accordance with CLSI guideline EP28-A3C.[13] Samples were collected prospectively from apparently healthy pediatric subjects, using predefined inclusion criteria. Reference values were generated for subpopulations based on age and Tanner stage subgroups based on physiological development. The study was designed to establish reference values across genders, and to include approximately equal numbers of males and females within each age or Tanner stage subgroup.

The subject's Tanner stage was assessed based on pubic hair and genitalia/breast development. The scale proposed by Neinstein and Kaufman was used for the determination of the Tanner stages.[14]

The reference intervals and Tanner values are based on the central 90% (5th and 95th percentiles). Where sample sizes were insufficient to calculate the 5th or 95th percentile, the minimum or maximum observed values are presented in the Reference Intervals tables.

IMMULITE 2000/2000 XPi FSH Pediatric Reference Intervals

Gender	Age (Years)	*n*	Median	Range
			mIU/mL (IU/L)	
Male	2–3	10	0.4	< 0.1*–> 0.7†
	4–9	57	0.6	0.3–1.9
	10–11	56	1.5	0.4–3.8
	12–21	184	2.6	1.2–7.0
Female	2–3	17	2.7	< 0.8*–> 5.2
	4–9	46	1.5	0.5–3.2
	10–11	55	4.0	1.1–9.0
	12–21	165	4.9	1.6–9.8

*Value presented is the minimum reportable value observed; insufficient sample size to calculate a 5th percentile limit.

† Value presented is the maximum value observed; insufficient sample size to calculate a 95th percentile limit.

IMMULITE 2000/2000 XPi FSH Pediatric Reference Intervals by Tanner Stage

Gender	Tanner Stage	*n*	Median	Range
			mIU/mL (IU/L)	
Male	1	73	0.8	0.2–2.1
	2	64	1.6	0.3–4.4
	3	63	2.7	1.1–7.5
	4	59	2.6	1.2–10.3
	5	48	2.9	1.3–6.6
Female	1	72	1.7	0.5–5.2
	2	47	4.4	1.2–9.5
	3	65	5.2	1.8–9.6
	4	47	5.3	1.1–9.4
	5	52	3.8	1.2–14.0

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

Limitations

In certain cases of infertility, treatment with human gonadotropins poses a potential problem for the accurate measurement of FSH levels. The FSH that is administered can cause the patient to produce antibodies to FSH which will interfere directly with the assay.

Because of pulsatile secretion, samples obtained within the same day from the same patient may fluctuate widely within the reference range, reflecting physiological variation rather than errors in technique or methodology.

Because EDTA would have a significant effect on results, it should not be used as an anticoagulant.

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 mIU/mL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Calibration Range: up to 170 mIU/mL (8.9 ng/mL) WHO 2nd IRP 78/549 [interim replacement code 94/632]

Analytical Sensitivity: 0.1 mIU/mL

High-dose Hook Effect: None up to 50,000 mIU/mL

Precision: Samples were assayed in duplicate in 40 runs for a total of 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 FSH solutions (150, 600 and 1800 mIU/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody is highly specific for FSH. (See "Specificity" table.)

Bilirubin: Presence of bilirubin in concentrations up to 200 mg/L has no effect on results, within the precision of the assay.

Biotin: Specimens that contain biotin at a concentration of 1500 ng/mL demonstrate a less than or equal to 10% change in results. Biotin concentrations greater than this may lead to incorrect results for patient samples

Hemolysis: Presence of hemoglobin in concentrations up to 600 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 3000 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 24 volunteers into plastic Becton Dickinson plain serum, heparinized, EDTA and SST® vacutainer tubes. All samples were assayed by the IMMULITE 2000 FSH procedure

(Heparin) = 1.09 (Serum) – 0.04 mIU/mL

(SST) = 0.94 (Plain Tubes) + 0.07 mIU/mL

(EDTA) = 0.75 (Serum) + 0.50 mIU/mL

Means:
13.7 mIU/mL (Serum)
14.8 mIU/mL (Heparin)
12.9 mIU/mL (SST)
10.8 mIU/mL (EDTA)

EDTA plasma should not be used as a sample type.

Method Comparison 1: The IMMULITE 2000 FSH mono/mono assay was compared to IMMULITE 2000 FSH mono/poly assay on 429 patient samples. (Concentration range: approximately 1.0 to 170 mIU/mL. See Graph 1.) By linear regression:

(IML 2000 m/m) =
1.06 (IML 2000 m/p) – 1.29 mIU/mL
r = 0.992

Means:
34.9 mIU/mL (IMMULITE 2000 mono/mono)
34.1 mIU/mL (IMMULITE 2000 mono/poly)

Method Comparison 2: The IMMULITE 2000 FSH mono/mono assay was compared to IMMULITE FSH mono/poly assay on 289 samples. (Concentration range: approximately 1.0 to 170 mIU/mL. See graph 2.) By linear regression:

(IML 2000 m/m) = 1.04 (IML m/p) –
0.06 mIU/mL
r = 0.991

Means:
36.1 mIU/mL (IMMULITE 2000 mono/mono)
34.9 mIU/mL (IMMULITE mono/poly)

References

1) Santner S, Santen R, Kulin H, Demers L. A model for validation of radioimmunoassay kit reagents: measurement of follitropin and lutropin in blood and urine. Clin Chem 1981;27:1892-5. 2) Odell W, et al. Radioimmunoassay for luteinizing hormone in human plasma or serum. J Clin Invest 1967;46:248-55. 3) Davidsohn I, Henry J, editors. Clinical diagnosis by laboratory methods. 15th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1974: 704. 4) Nankin H, et al. Repetitive luteinizing hormone elevations in serum of normal men. J Clin Endo Metab 1972;33:558-60. 5) Beitens I, et al. Gonadotropin determinations in timed 3-hour urine collections during the menstrual cycle and LHRH testing. J Clin Endo Metab 1976;43:46-55. 6) Chipman J, et al. Interrelationship of plasma and urinary gonadotropins: correlations for 24 hours, for sleep/wake periods, and for 3 hours after luteinizing hormone-releasing hormone stimulation. Clin Endo Metab 1981;52:225-30. 7) Kulin H, et al. Integration of pulsatile gonadotropin secretion by timed urinary measurements: an accurate and sensitive 3-hour test. J Clin Endo Metab 1975;40:783-9. 8) Kulin H, Santner S. Timed urinary gonadotropin measurements in normal infants, children, and adults, and in patients with disorders of sexual maturation. J Pediatrics 1977;90:760-5. 9) Urban M, et al. Comparison of estimates of gonadotropin levels by isolated blood samples, integrated blood concentrations,

and timed urinary fractions. J Clin Endo Metab 1979;48:732-5. 10) Rebar R, Yen S. In: Dorothy Krieger, editor. Endocrine rhythms. New York: Raven Press, 1979. 11) Odell WD, et al. Radioimmunoassay for human follicle-stimulating hormone: physiological studies. J Clin Invest 1968;47:2551-62. 12) Sutaria UE, Crooke AC. Selection of patients for treatment with human gonadotrophins. Int J Fertil 1971;16:42-6. 13) Clinical and Laboratory Standards Institute. *Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Third Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010. CLSI Guideline EP28-A3C.

14) Neinstein LS and Kaufman FR, Chapter 1: Normal Physical Growth and Development in Neinstein L.S. *Adolescent Health Care: A Practical Guide*, 4th ed. 15) Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. MMWR, 1988;37:377–82, 387–8. 16) Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3. 17) Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030.

Technical Assistance

Contact your National Distributor.

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

Precision (mIU/mL)

		Within-Run[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	6.8	0.20	2.9%	0.28	4.1%
2	22.9	0.79	3.4%	1.11	4.8%
3	44.9	1.44	3.2%	1.86	4.1%
4	68.1	2.89	4.2%	4.27	6.3%
5	103	3.17	3.1%	8.09	7.9%

Linearity (mIU/mL)

	Dilution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	8 in 8[5]	10.0	—	—
	4 in 8	5.08	5.0	102%
	2 in 8	2.46	2.5	98%
	1 in 8	1.19	1.25	95%
2	8 in 8	15.0		—
	4 in 8	8.15	7.5	109%
	2 in 8	4.04	3.75	108%
	1 in 8	1.96	1.88	104%
3	8 in 8	29.2		—
	4 in 8	16.1	14.6	110%
	2 in 8	7.75	7.30	106%
	1 in 8	4.01	3.65	110%
4	8 in 8	44.1		—
	4 in 8	23.5	22.1	106%
	2 in 8	11.9	11.0	108%
	1 in 8	5.97	5.51	108%
5	8 in 8	63.0		—
	4 in 8	33.7	31.5	107%
	2 in 8	17.4	15.8	110%
	1 in 8	8.6	7.88	109%
6	8 in 8	109		
	4 in 8	59.5	54.3	110%
	2 in 8	29.1	27.2	107%
	1 in 8	14.6	13.6	107%

Specificity

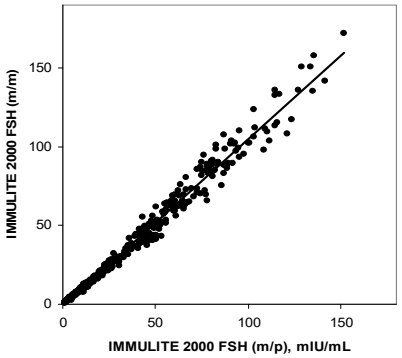
	Added[2]			
Compound[1]		ng/mL	Apparent FSH ng/mL	% Cross reactivity[3]
HCG	2000	215	ND	ND
mIU/mL	200,000	21,538	ND	ND
TSH	10	2.0	ND	ND
uIU/mL	200	40.5	ND	ND
LH	75	7.6	ND	ND
mIU/mL	300	30.5	ND	ND
Prolactin	25	25	ND	ND
ng/mL	200	200	ND	ND
HGH	5.0	5.0	ND	ND
ng/mL	50	50	ND	ND
HPL	10,000	10,000	ND	ND
ng/mL	50,000	50,000	ND	ND

ND: not detectable[4]

Recovery (mIU/mL)

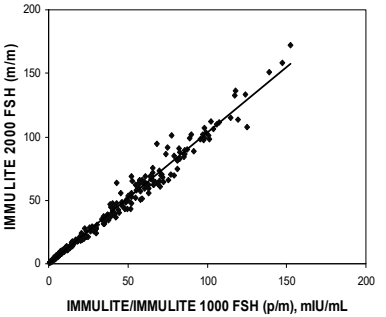
	Solution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	—	1.55	—	—
	A	10.3	8.97	115%
	B	33.9	31.5	108%
	C	108	91.5	118%
2	—	4.71	—	—
	A	12.6	12.0	105%
	B	36.0	34.5	104%
	C	109	94.5	115%
3	—	4.75	—	—
	A	14.1	12.0	118%
	B	38.6	34.5	112%
	C	130	94.5	138%
4	—	5.47	—	—
	A	13.7	12.7	108%
	B	35.5	35.2	101%
	C	116	95.2	122%

Method Comparison 1



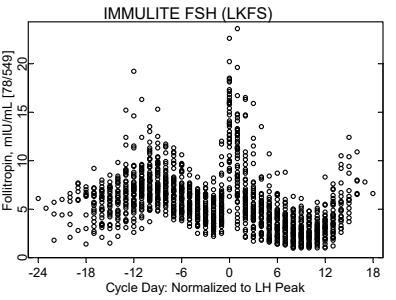
(IML 2000 m/m) =
1.06 (IML 2000 m/p) – 1.29 mIU/mL
r = 0.992

Method Comparison 2



(IML 2000 m/m) = 1.04 (IML m/p) – 0.06 mIU/mL
r = 0.991

Menstrual Cycle Graph



Deutsch. **Precision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]SD (Standardbereich), [5]CV (Variationskoeffizient). **Linearity**: [1]Verdünnung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Lösung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E. **Specificity**: [1]Verbindung, [2]zugesetzte Menge, [3]% Kreuzreaktivität, [4]NN: Nicht nachweisbar. **Method Comparison Graph**: FSH. **Menstrual Cycle Graph.** Cycle Day: Normalized to LH PeakZyklustag: bezogen auf LH-Peak

Español. **Precision**: [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV. **Linearity**: [1] Dilución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 en 8. **Recovery**: [1]Solución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Specificity**: [1]Compuesto, [2] Cantidad añadida, [3]% Reacción cruzada, [4]ND: no detectable. **Method Comparison Graph**: FSH. **Menstrual Cycle Graph.** Cycle Day: Normalized to LH Peak: Día del Ciclo: referido al pico de LH

Français. **Precision:** [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]SD, [5]CV. **Linearity:** [1]Dilution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A, [5]8 dans 8. **Recovery:** [1]Solution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A. **Specificity:** [1]Composé, [2]ajouté, [3]Réaction croissée %, [4]ND: non détectable. **Method Comparison Graph**: FSH. **Menstrual Cycle Graph.** Cycle Day: Normalized to LH Peak: Jour du cycle normalise par rapport au pic de LH

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity**: [1]Diluizione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Soluzione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A. **Specificity**: [1]Composto, [2]quantità aggiunta, [3]Percentuale di Crossreattività, [4]ND: non determinabile. **Method Comparison Graph**: FSH. **Menstrual Cycle Graph.** Cycle Day: Normalized to LH Peak: Ciclo Giornaliero: Normalizzato/i al Picco di LH

Português. **Precision**: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação. **Linearity**: [1]Diluição, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 em 8. **Recovery**: [1]Solução, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Specificity**: [1]Composto, [2]Quantidade adicionada, [3]Percentagem de reacção cruzada, [4]ND: não detectável. **Method Comparison Graph**: FSH. **Menstrual Cycle Graph.** Cycle Day: Normalized to LH Peak: Dia do Ciclo: Normalizado até Pico de LH.

Deutsch

FSH

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme — zur quantitativen Messung von FSH im Serum, als Hilfe bei der Diagnose und Behandlung von Störungen der Hypophysen- und Gonadenfunktion.

Artikelnummern: **L2KFS2** (200 Tests), **L2KFS6** (600 Tests)

Testcode: **FSH** Farbe: **hellgrau**

Klinische Relevanz

Follikel stimulierendes Hormon (Follitropin, FSH) wird durch die B-Zellen des vorderen Hypophyselappens ausgeschieden und unterliegt der Kontrolle durch das Gonadotropin Releasing Hormon des Hypothalamus. FSH ermöglicht die Entwicklung und Erhaltung des gonadalen Gewebes, das die Steroidhormone synthetisiert und freisetzt. Die zirkulierenden FSH-Spiegel werden durch die steroidalen Hormone über einen negativen Rückkopplungsmechanismus auf den Hypothalamus gesteuert. Obwohl FSH und LH zur normalen sexuellen Funktion beider Geschlechter erforderlich sind, zeigen sich erhebliche Unterschiede im sekretorischen Muster für Männer und Frauen.

Bei Frauen im fertilen Alter, initiiert das FSH das Wachstum und die Entwicklung ovarieller Follikel. Während der Ovulation, nach dem Aufbrechen des Follikels, produziert der Follikel, jetzt Corpus luteum, Östradiol und Progesteron. Diese beiden Hormone regulieren die zirkulierenden FSH-Spiegel über eine negative Rückkopplung auf den Hypothalamus. In der Menopause kommt es auf Grund der verringerten ovariellen Funktion zu einer merklichen Abschwächung der Östradiol-Freisetzung. Das Fehlen einer Östradiol gesteuerten negativen Rückkopplung, verursacht einen beträchtlichen Anstieg der FSH-Konzentrationen.

Im erwachsenen Mann ist das FSH assoziiert mit der Stimulation und Aufrechterhaltung der Spermatogenese. Testosteron und Östradiol haben die Aufgabe dzas negative Rückkopplungssignal zum Hypothalamus zu unterstützen, um die Freisetzung des FSH zu kontrollieren. Die Infertilität bei Männern kann in einem Hypogonadismus begründet sein, der auf primäre testikuläre Störungen zurückzuführen ist. Testikuläre Störungen können funktionelle Störungen in der Reifung zugrundeliegen. Aber auch die Zerstörung von Keimzellen kann zu gleichen Symptomen führen. Was auch immer die ätiologische Ursache ist, Hypogonadismus führt im Ergebnis zu einem dramatischen Anstieg der meßbaren FSH-Konzentrationen, da der negative Rückkopplungseffekt nicht greifen kann.

Methodik

Der IMMULITE 2000 FSH ist ein Festphasen-, Zweiphasen-, Chemilumineszenz-, Immunometrischer Assay.

Inkubationszyklen: 1 × 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 zurückhaltend zu interpretieren.

EDTA-Plasma ist als Probenart nicht geeignet.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter 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 FSH sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 50 µl Serum

Lagerung: 7 Tage bei 2–8°C oder 2 Monate bei –20°C.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *in vitro*-Diagnostik.

VORSICHT! BIOLOGISCHES RISIKOMATERIAL
Enthält Material humanen Ursprungs. Alle Blutspenden oder Blutkomponenten menschlicher Herkunft wurden nach FDA-genehmigten Methoden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die HI-Viren Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2) sowie von Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und Antikörpern gegen das Hepatitis C-Virus (HCV) getestet. Die Testergebnisse waren negativ (nicht wiederholt reaktiv). Durch keinen Test kann das Vorhandensein dieser oder anderer infektiöser Stoffe vollständig ausgeschlossen werden. Dieses Material ist mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und gemäß der allgemein anerkannten guten Laborpraxis zu handhaben.[15–17]

VORSICHT: Dieses Gerät enthält Material tierischen Ursprungs und sollte als ein potenzieller Träger und Überträger von Krankheiten behandelt werden.

Reagenzien: Bei 2–8°C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Bestimmten Komponenten wurde Natriumazid (< 0,1 g/dl) hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu verhindern, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

Chemilumineszenz-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.

FSH Kugel-Container (L2FS12)
Mit Barcode. Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit monoklonalem FSH-Antikörper (Maus). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KFS2: 1 Container
L2KFS6: 3 Container

FSH Reagenzbehälter (L2FSA2)
Mit Barcode. 11,5 ml mit alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugierte FSH Antikörper (monoklonal, Maus) in Pufferlösung (mit Konservierungsmittel). Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.
L2KFS2: 1 Behälter **L2KFS6:** 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.

FSH Kalibratoren (LFSL, LFSH)
Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) mit jeweils 3,0 ml FSH in einer non-humanen Serum-Matrix (mit Konservierungsmittel). 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KFS2: 1 Set **L2KFS6:** 2 Sets

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Röhrchen kleben, so daß die Barcodes vom Barcodereader des Systems gelesen werden können.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

FSH –Verdünnungspuffer (L2FSZ)
Zur on-board Verdünnung von Proben hoher Konzentration. Es enthält 25 ml Konzentrat (gebrauchsfertig) einer FSH-freien non-humanen Serum-Matrix (mit Konservierungsmittel). Lagerung: 30 Tage (nach Öffnen) bei 2–8°C oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert). Den Vorschriften entsprechend entsorgen.

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, so dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2FSZ: 3 Etiketten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: (Wegwerf-) Reaktionsgefäße
L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm) für die Probenverdünnung
L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Röhrchen; Kontrollen

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Verdünnung, Kalibration, Test- und Qualitätskontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme.

Empfohlenes Kalibrationsintervall: 4 Wochen

Proben zur Qualitätskontrolle: Jeweils gültige gesetzlichen Bestimmungen oder Akkreditierungsanforderungen sind bei der Festlegung der Intervalle zur Durchführung der Qualitätskontrollen zu berücksichtigen.

Kontrollen oder Seren mit FSH in zumindest zwei Konzentrationen (niedrige und hohe) verwenden.

Siemens Healthcare Diagnostics empfiehlt die Verwendung von kommerziell verfügbaren Qualitätskontrollen in mindestens 2 Konzentrationen (niedrig und hoch). Der Systembetrieb gilt dann als zufriedenstellend, wenn die Analytwerte innerhalb des für das System zulässigen Kontrollbereichs oder des für die laborinternen Qualitätskontrollverfahren festgelegten zulässigen Bereichs liegen.

Referenzwerte

Basierend auf der Übereinstimmung mit dem IMMULITE-FSH mono/poly Assay (siehe Methodenvergleich 2) kann für den IMMULITE-FSH mono/poly Assay im Wesentlichen von übereinstimmenden Referenzwerten ausgegangen werden.

Die Referenzbereiche wurden in einer internationalen Multicenter-Studie mit dem IMMULITE-FSH (mono/poly) Assay bestimmt. Es wurden täglich während des gesamten Ovulationszykluses Proben von offensichtlich gesunden Frauen (Alter 16–44 Jahre) entnommen. (Siehe Grafik "Menstruationperiode".)

		FSH, mIU/ml	
Ovulationszyklen	*n**	Median	95%-Bereich
Follikelphase	54 (762)	6,2	2,8–11,3
Follikelphase, 2, bis 3. Tag	54 (108)	6,6	3,0–14,4
Mittelzyklus	54 (54)	13,6	5,8–21
Lutealphase	54 (604)	3,4	1,2–9,0

*Anzahl der Versuchpersonen (Gesamtsahl der Ergebnisse)

Eine weitere Studie mit dem IMMULITE FSH (mono/poly) Assay ergab für erwachsene Männer und postmenopausale Frauen (unbehandelt) folgende Ergebnisse. (Die Werte für Frauen unter Kontrazeptiva und für postmenopausale Frauen unter HRT basieren auf der Korrelation zum Coat-A-Count FSH IRMA.)

		FSH, mIU/ml	
Gruppe	*n*	Median	95%-Bereich
Männer	135	3,8	0,7–11,1
Frauen			
Postmenopause*	76	90,5	21,7–153
Postmenopause (HRT)	16	27	9,7–111
Orale Kontrazeptiva	12	1,7	NN–4,9

*Vorläufig NN: Nicht nachweisbar

Für eine altersabhängige Studie wurde in einer "Wellness"-Klinik im Südwesten der USA mit Hilfe des IMMULITE-FSH (mono/poly) folgende Werte ermittelt.

			FSH, mIU/ml	
Gruppe	Alter (Jahre)	*n*	Median	95%-Bereich
Frauen	Schnur	30	NN	
	0,1–3	57	2,3	0,11–13
	4–9	28	0,8	0,11–1,6
Männer	Schnur	37	0,24	NN–1,2
	0,1–3	72	0,6	NN–5,5
	4–9	31	0,23	NN–1,9
Kombiniert	Schnur	67	0,11	NN–1,1
	0,1–3	129	1,1	NN–10
	4–9	59	0,5	NN–1,8

NN: Nicht nachweisbar

Kinder: Die pädiatrischen Referenzbereiche (Kinder und Jugendliche) wurden in Übereinstimmung mit der CLSI-Richtlinie EP28-A3C für den IMMULITE FSH-Assay festgelegt.[13] Die Proben wurden prospektiv mit vorab festgelegten Einschlusskriterien von offensichtlich gesunden Kindern gesammelt. Für altersspezifische Untergruppen und Untergruppen nach Tannerstadium gemäß ihrer physiologischen Entwicklung wurden Referenzwerte ermittelt. Die Studie diente der Ermittlung von Referenzwerten für beide Geschlechter, wobei ungefähr dieselbe Anzahl von weiblichen und männlichen Probanden jeden Alters bzw. aus jeder Tanner-Stadium-Untergruppe in die Studie eingeschlossen werden sollten. Das Tanner-Stadium der Probanden wurde anhand der Schambehaarung sowie des Entwicklungsstadiums der Genitalien bzw. der Brust beurteilt. Dabei

wurde die von Neinstein und Kaufman vorgeschlagene Skala zur Festlegung der Tannerstadien verwendet.[14]

Die Referenzwerte und Angaben zu den Tannerstadien basieren auf den zentralen 90 % (5. und 95. Perzentile). Bei Probenmengen, die für eine Berechnung des 5. und 95. Perzentils unzureichend waren, werden die beobachteten Mindest- und Höchstwerte entsprechend den Referenzbereichen und Referenzwerten in den Tabellen aufgeführt.

Pädiatrische Referenzbereiche für IMMULITE 2000/2000 XPi FSH

Geschlecht	Alter (Jahre)	*n*	Median mIE/ml (IE/l)	Bereich mIE/ml (IE/l)
Männlich	2–3	10	0,4	< 0,1*–> 0,7†
	4–9	57	0,6	0,3–1,9
	10–11	56	1,5	0,4–3,8
	12–21	184	2,6	1,2–7,0
Weiblich	2–3	17	2,7	< 0,8*–> 5,2
	4–9	46	1,5	0,5–3,2
	10–11	55	4,0	1,1–9,0
	12–21	165	4,9	1,6–9,8

*Der angegebene Wert ist der niedrigste beobachtete Wert, da die Anzahl der Proben nicht ausreichend war, um die 5. Perzentile als Bereichsgrenze zu berechnen.

†Der angegebene Wert ist der höchste beobachtete Wert, da die Anzahl der Proben nicht ausreichend war, um die 95. Perzentile als Bereichsgrenze zu berechnen.

Pädiatrische Referenzbereiche nach Tannerstadien für IMMULITE 2000/2000 XPi FSH

Geschlecht	Tanner-stadium	*n*	Median mIE/ml (IE/l)	Bereich mIE/ml (IE/l)
Männlich	1	73	0,8	0,2–2,1
	2	64	1,6	0,3–4,4
	3	63	2,7	1,1–7,5
	4	59	2,6	1,2–10,3
	5	48	2,9	1,3–6,6
Weiblich	1	72	1,7	0,5–5,2
	2	47	4,4	1,2–9,5
	3	65	5,2	1,8–9,6
	4	47	5,3	1,1–9,4
	5	52	3,8	1,2–14,0

Betrachten Sie diese Grenzwerte nur als *Richtlinien*. Jedes Labor sollte eigene Referenzbereiche ermitteln.

Grenzen der Methode

In bestimmten Fällen der Infertilität kann die Behandlung mit menschlichen Gonadotropinen ein potentielles Problem für die genaue Messung der FSH-Spiegel darstellen. Das zugegebene FSH kann eine FSH-Antikörperbildung im Patienten hervorrufen. Dies kann eine Störung des Assays bewirken.

Wegen der pulsatiler Sekretion können Proben, die am gleichen Tag vom gleichen Patienten kommen, weit innerhalb des Referenzbereiches schwanken. Dies entspricht der physiologischen Variabilität und ist nicht auf Messabweichungen der Assaymethodik begründet.

EDTA würde die Resultate erheblich verfälschen und sollte daher nicht als Antikoagulans verwerdet werden.

Heterophile Antikörper in Humanseren können mit Immunglobulinen aus den Assaykomponenten reagieren und Interferenzerscheinungen innerhalb des *in vitro* Immunoassays verursachen. (*Clin Chem* 1998:34:27-33) 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

Representative Daten zum Test entnehmen Sie bitte den Tabellen und graphischen Darstellungen. Die Ergebnisse sind in mIU/ml angegeben. (Sofern nicht anders angegeben, wurden hierfür Serumproben in Röhrchen ohne Geltrennung und Gerinnungshilfen eingesetzt.)

Messbereich: Bis 170 mIU/ml (8,9 ng/ml) [WHO 2nd IRP 78/549] [Interims-Ersatzcode 94/632]

Analytische Sensitivität: 0,1 mIU/ml

High-Dose-Hook-Effect: Bis 50 000 mIU/ml keiner

Präzision: Die Proben wurden in 40 Ansätzen in Doppelbestimmung, ingesamt also in 80 Tests, gemessen. (Siehe Tabelle "Precision".)

Linearität: Proben wurden getestet, und zwar nachdem sie verschiedenerweise verdünnt wurden. (Siehe Tabelle "Linearity".)

Wiederfindung: Proben wurden mit drei FSH Lösungen (150, 600 und 1800 mIU/ml) im Verhältnis von 1:19 versetzt. (Siehe Tabelle "Recovery".)

Spezifität: Der Assay ist hochspezifisch für FSH. (Siehe Tabelle "Specificity".)

Bilirubin: Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Biotin: Proben, die Biotin in einer Konzentration von 1500 ng/ml enthalten, zeigen eine Veränderung der Ergebnisse von kleiner oder gleich 10 %. Größere Biotin-Konzentrationen als diese können zu falschen Ergebnissen bei Patientenproben führen.

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 600 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride haben in Konzentrationen bis zu 3000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Alternativer Probentyp: Alternativer Probentyp: Um den Einfluss von alternativen Probentypen zu überprüfen, wurde 24 Freiwilligen Blut in Plastik-Röhrchen ohne Zusatz (Becton Dickinson), Heparin-Röhrchen, EDTA-Röhrchen und SST Vacutainer-Röhrchen entnommen. Alle Proben wurden mit der IMMULITE 2000 FSH Methode bestimmt.

(Heparin) = 1,09 (Serum) – 0,04 mIU/ml

(SST) = 0,94 (einfachen Röhrchen) + 0,07 mIU/ml

(EDTA) = 0,75 (Serum) + 0,50 mIU/ml

Mittelwert:
13,7 mIU/ml (Serum)
14,8 mIU/ml (Heparin)
12,9 mIU/ml (SST)
10,8 mIU/ml (EDTA)

EDTA-Plasma ist als Probenart nicht geeignet.

Methodenvergleich 1: Der IMMULITE 2000 FSH mono/mono Assay wurde auf der Basis von 429 Patientenproben mit dem IMMULITE 2000 FSH mono/poly verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 1,0 bis 170 mIU/ml. Siehe Grafik 1.) Durch lineare Regression:

(IML 2000 m/m) =
1,06 (IML 2000 m/p) – 1,29 mIU/ml
r = 0,992

Mittelwert:
34,9 mIU/ml (IMMULITE 2000 mono/mono)
34,1 mIU/ml (IMMULITE 2000 mono/poly)

Methodenvergleich 2: Der IMMULITE 2000 FSH mono/mono Assay wurde unter Verwendung von 289 Patientenproben mit IMMULITE FSH mono/poly verglichen. (Konzentrationsbereich ca. 1,0–170 mIU/ml. Siehe Grafik 2.)

Durch lineare Regression:

(IML 2000 m/m) = 1,04 (IML m/p) – 0,06 mIU/ml
r = 0,991

Mittelwert:
36,1 mIU/ml (IMMULITE 2000 mono/mono)
34,9 mIU/ml (IMMULITE mono/poly)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung vor Ort.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

FSH

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE 2000 — para la medición cuantitativa de globulina transportadora de FSH en suero, como ayuda en el

diagnóstico y tratamiento de las afecciones pituitarias y gonadales.

Números de Catálogo:
L2KFS2 (200 tests), **L2KFS6** (600 tests)

Código del Test: **FSH**
Color: **Gris claro**

Resumen y Explicación del Test

La hormona estimulante del folículo (Follitropina, FSH) es secretada por las células B de la hipófisis anterior bajo el control de la hormona liberadora de gonadotropinas (Gn-RH) producida en el hipotálamo. La FSH favorece el desarrollo y mantenimiento de los tejidos gonadales, que sintetizan y seccretan las hormonas esteroideas. Los niveles séricos de FSH están controlados en el hipotálamo por un mecanismo de retroacción negativo de las hormonas esteroideas. Aunque la FSH y la LH se requieren para una normal funcionalidad sexual, tanto en hombres como en mujeres, los patrones de secrección son muy diferentes en los dos sexos.

En las mujeres adultas, la FSH promueve el crecimiento y desarrollo de los folículos ováricos. Durante la ovulación, cuando el folículo es liberado, el folículo, ahora denominado cuerpo lúteo, segrega estradiol y progesterona, quienes controlan los niveles circulantes de la FSH, en el hipotálamo, mediante un mecanismo de retroacción negativo. En la menopausia, donde la función ovárica está disminuida, hay un decaimiento en la secrección de estradiol. Debido a la carencia del mecanismo de reatroacción negativo, al estar los niveles de estradiol disminuidos, los niveles de FSH circulante empiezan a incrementarse considerablemente.

En el hombre adulto, la FSH está asociada con la estimulación y mantenimiento de la espermatogénesis. La Testosterona y el estradiol tienen el papel de generar la señal de retroacción negativa al hipotálamo para controlar la liberación de FSH. La infertilidad en los hombres puede ser debida a un hipogonadismo como resultado de un fallo testicular primario. Cualquiera que sea la etiología, el hipogonadismo tiene un resultado neto del aumento drástico de los niveles séricos de FSH, debido a la ausencia de retroacción negativa.

Principio del análisis

IMMULITE 2000 FSH es un ensayo inmunométrico con dos sitios de unión, quimioluminiscente en fase sólida.

Ciclos de incubación: 1 × 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.

El plasma con EDTA no deberia ser usado como muestra.

La centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El FSH 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: 50 µl de suero

Conservación: 7 días a 2–8°C, o
2 meses a –20°C.

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

¡PRECAUCIÓN! PELIGRO BIOLÓGICO POTENCIAL
Contiene material de origen humano. Todas las donaciones de sangre humana o de componentes sanguíneos se analizaron conforme a métodos aprobados por la FDA para determinar la presencia del virus de la inmunodeficiencia humana del tipo 1 (HIV-1) y del tipo 2 (HIV-2), así como también el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) y el anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (HCV). Los resultados de las pruebas fueron negativos (no reactivos repetidamente). Ninguna prueba ofrece total garantía de que en las muestras no haya estos agentes infecciosos u otros; por tanto, este material se deberá manipular conforme a las prácticas recomendables de laboratorio y las precauciones universales[15–17].

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debe manejarse como posible portador y transmisor de enfermedades.

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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las canerias 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 FSH (L2FS12)
Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpo monoclonal murino anti-FSH. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KFS2: 1 cartucho **L2KFS6:** 3 cartuchos

Vial de reactivo de FSH (L2FSA2)
Con códigos de barras. 11,5 ml fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con monoclonal murino anti-FSH en solución tampón, con conservante. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KFS2: 1 vial **L2KFS6:** 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 FSH (LFSL, LFSH)
Dos viales (bajo y alto) de 3,0 ml cada una de FSH en una matriz de suero no humano, con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KFS2: 1 juego **L2KFS6:** 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 FSH (L2FSZ)
Para la dilución de muestras de alta concentración dentro del equipo. 25 ml de un concentrado listo para usarse, compuesto de una matriz de suero no humano libre de FSH, con conservante. Conservación: 30 días (después de su apertura) a 2–8°C o 6 meses (alicuotado) a –20°C. Desechar de acuerdo con la legislación actual.

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 × 100 mm, así los códigos de barras

pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2FSZ: 3 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 × 100 mm)
L2ZC: 250 Casquillos Del Tubo Del Diluyente De la Muestra

También necesarios
Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles

Ensayo

Aviso: para obtener un funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:
4 semanas

Muestras de Control de Calidad: Seguir las reglamentaciones gubernamentales o los requisitos de acreditación para conocer la frecuencia de control de calidad.

Utilizar controles o pooles de sueros con al menos dos niveles diferentes de FSH (bajo y alto).

Siemens Healthcare Diagnostics recomienda el uso de materiales de control de calidad comercializados con al menos 2 niveles (bajo y alto). Un nivel de funcionamiento satisfactorio se consigue cuando los valores obtenidos del analito están dentro del rango de control aceptable para el sistema, o dentro del rango establecido determinado por un programa adecuado de control de calidad interno de laboratorio.

Valores Esperados

Basado en su relación con el IMMULITE FSH (mono/poli) (ver Método de Comparación 2), se puede esperar que el ensayo tenga esencialmente los mismos rangos de referencia.

Los valores de normalidad de la FSH IMMULITE (mono/poli) fueron obtenidos en un estudio multinacional, con mujeres voluntarias en aprente buen estado de salud, edades comprendidas entre 16 y 44 años y con tomas de sangre diarias hasta completar un ciclo completo ovulatorio. (Véase gráfico “Periodo Menstrual”.)

		FSH, mIU/ml	
Ciclos ovulatorios	*n**	Mediana	Central 95%
Fase folicular	54 (762)	6,2	2,8–11,3
Fase folicular, Días 2 a 3	54 (108)	6,6	3,0–14,4
Ciclo medio	54 (54)	13,6	5,8–21
Fase lútea	54 (604)	3,4	1,2–9,0

*Número de individuos (número total de resultados)

Otro estudio realizado con la FSH IMMULITE (mono/poli) ha establecido los siguientes resultados para hombres adultos y mujeres postmenopaúsicas no tratadas. Los rangos para mujeres tomando anticonceptivos orales y mujeres postmenopaúsicas en tratamiento sustitutivo de estradiol están basadas en la correlación del kit FSH IMMULITE con el kit Coat-A-Count FSH IRMA.

		FSH, mIU/ml	
Grupo	*n*	Mediana	Central 95%
Hombres	135	3,8	0,7–11,1
Mujeres			
Postmenopaúsicas	76	90,5	21,7–153
Postmenopaúsicas (ERT)	16	27	9,7–111
Anticonceptivos orales	12	1,7	ND–4,9

*Preliminar ND: no detectable

Un estudio sectorial sobre los valores normales de fertilidad pediátrica llevados a cabo con la FSH IMMULITE (mono/poli) en indiviuos aparentemente sanos en suroeste de los Estados Unidos dió lugar a los siguientes resultados.

Grupo	Edad (años)	*n*	FSH, mIU/ml Mediana	Central 95%
Mujeres	Cordón	30	ND	
	0,1–3	57	2,3	0,11–13
	4–9	28	0,8	0,11–1,6
Hombres	Cordón	37	0,24	ND–1,2
	0,1–3	72	0,6	ND–5,5
	4–9	31	0,23	ND–1,9
Combinado	Cordón	67	0,11	ND–1,1
	0,1–3	129	1,1	ND–10
	4–9	59	0,5	ND–1,8

ND: no detectable

Niños: Los intervalos de referencia de la población pediátrica (niños y adolescentes) para el ensayo IMMULITE FSH se establecieron de acuerdo con el documento EP28-A3C[13] del CLSI. Las muestras se obtuvieron de manera prospectiva a partir de sujetos pediátricos aparentemente sanos siguiendo criterios de inclusión predefinidos. Se generaron valores de referencia para subpoblaciones basadas en subgrupos clasificados por edad y etapa de Tanner en función del desarrollo fisiológico. El estudio se ha diseñado para establecer valores de referencia para ambos géneros, e incluir un número aproximadamente equivalente de varones y hembras dentro de cada subgrupo de edad o etapa de Tanner. La etapa de Tanner de cada sujeto se evaluó en función del vello púbico y el desarrollo de los genitales/las mamas. La escala, propuesta por Neinstein y Kaufman, se usó para determinar las etapas de Tanner[14].

Los intervalos de referencia y los valores de Tanner se basan en el 90% central (percentiles 5 y 95). Si las muestras no tienen un tamaño suficiente para calcular el percentil 5 o 95, se presentan los valores mínimos o máximos observados en las tablas Intervalos de referencia.

Intervalos de referencia de IMMULITE 2000/2000 XPi FSH para la población pediátrica

Sexo	Edad (años)	*n*	Mediana mUI/ml (UI/l)	Rango mUI/ml (UI/l)
Varones	2–3	10	0,4	< 0,1*–> 0,7†
	4–9	57	0,6	0,3–1,9
	10–11	56	1,5	0,4–3,8
	12–21	184	2,6	1,2–7,0
Hembras	2–3	17	2,7	< 0,8*–> 5,2
	4–9	46	1,5	0,5–3,2
	10–11	55	4,0	1,1–9,0
	12–21	165	4,9	1,6–9,8

*El valor presentado es el valor mínimo reportable observado; tamaño de muestra insuficiente para calcular un límite de percentil 5.

† El valor presentado es el valor máximo observado; tamaño de muestra insuficiente para calcular un límite de percentil 95.

Intervalos de referencia de IMMULITE 2000/2000 XPi FSH para la población pediátrica por etapa de Tanner

Sexo	Etapa de Tanner	*n*	Mediana mUI/ml (UI/l)	Rango mUI/ml (UI/l)
Varones	1	73	0,8	0,2–2,1
	2	64	1,6	0,3–4,4
	3	63	2,7	1,1–7,5
	4	59	2,6	1,2–10,3
	5	48	2,9	1,3–6,6
Hembras	1	72	1,7	0,5–5,2
	2	47	4,4	1,2–9,5
	3	65	5,2	1,8–9,6
	4	47	5,3	1,1–9,4
	5	52	3,8	1,2–14,0

Estos límites han de considerarse sólo como una *guía*. Cada Laboratorio deberá establecer sus propios rangos de referencia.

Limitaciones

En ciertos casos de infertilidad, el tratamiento con gonadotropinas humanas plantea un problema potencial para la medición precisa de los niveles de FSH. La FSH que se administra puede causar que el paciente produzca anticuerpos

contra la FSH, los cuales interferirán directamente con el ensayo.

Debido a la secrección pulsátil, muestras de un mismo indiciduo tomadas el mismo día pueden variar considerablemente dentro de los valores de normalidad, lo que refleja una variación fisiológica más que un error en la técnica o en la metodología.

Como EDTA tendría un efecto significativo en los resultados, no debe usarse como anticoagulante.

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis *in vitro*. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasione un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia, no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

Características Analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo ver las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en mIU/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.)

Intervalo de calibración: hasta 170 mIU/ml (8,9 ng/ml). Estandarizado en términos de la WHO 2° IRP 78/549 [código interino de cambio 94/632]

Sensibilidad: 0,1 mIU/ml

Efecto de gancho a altas dosis: Ninguno hasta 50 000 mIU/ml

Precisión: Las muestras fueron analizadas por duplicado en 40 tandas para un total de 80 replicados. (Ver la tabla "Precision".)

Linealidad: Las muestras fueron analizadas en varias diluciones. (Ver la tabla de "Linearity" para resultados representativos.)

Recuperación: Se analizaron muestras sobrecargadas 1 en 19 con tres soluciones FSH (150, 600 y 1800 mIU/ml). (Ver la tabla de "Recovery" para resultados representativos.)

Especificidad: El ensayo es altamente específico para FSH. (Ver la tabla de "Specificity".)

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina, en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Biotina: Las muestras que contienen biotina en una concentración de 1500 ng/ml han demostrado un cambio igual o inferior al 10% en los resultados. Una concentración de biotina superior a esta puede producir resultados incorrectos para las muestras del paciente.

Hemólisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 600 mg/dl,no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Lipemia: La presencia de triglicéridos en concentraciones hasta 3000 mg/dl no tiene efecto alguno en los resultados, en lo correspondiente a la precisión del ensayo.

Tipos de muestra alternativos: Para evaluar el efecto de los tipos de muestra alternativos, se extrajo sangre a 24 voluntarios en tubos de plástico Becton Dikinson secos, con heparina, con EDTA y tubos SST vacutainer. Todas las muestras fueron analizadas con el ensayo de FSH IMMULITE 2000.

(Heparina) = 1,09 (Suero) – 0,04 mIU/ml

(SST) = 0,94 (tubos simples) + 0,07 mIU/ml

(EDTA) = 0,75 (Suero) + 0,50 mIU/ml

Medias:
13,7 mIU/ml (Suero)
14,8 mIU/ml (Heparina)
12,9 mIU/ml (SST)
10,8 mIU/ml (EDTA)

El plasma con EDTA no deberia ser usado como muestra.

Comparación de los métodos 1: El IMMULITE 2000 FSH mono/mono ensayo se ha comparado con el IMMULITE 2000 FSH mono/poli en 429 muestras de pacientes. (Rango de Concentración: aproximadamente 1,0 a 170 mIU/ml. Ver el gráfico 1.) Por regresión linear:

(IML 2000 m/m) =
1,06 (IML 2000 m/p) – 1,29 mIU/ml
r= 0,992

Medias:
34,9 mIU/ml (IMMULITE 2000 mono/mono)
34,1 mIU/ml (IMMULITE 2000 mono/poli)

Comparación de los métodos 2: El IMMULITE 2000 FSH mono/mono ensayo se ha comparado con el IMMULITE FSH mono/poli en 289 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente 1,0 a 170 mIU/ml. Ver la gráfico 2.) Por regresión lineal:

(IML 2000 m/m) = 1,04 (IML m/p) – 0,06 mIU/ml
r = 0,991

Medias:
36,1 mIU/ml (IMMULITE 2000 mono/mono)
34,9 mIU/ml (IMMULITE mono/poly)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

IMMULITE 2000 FSH

Domaine d'utilisation : dosage quantitatif de la FSH dans le sérum. Ce test est réservé à un usage diagnostic *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000 et constitue une aide au diagnostic et le traitement des troubles hypophysaires et gonadiques.

Référence catalogue :
L2KFS2 (200 tests), **L2KFS6** (600 tests)

Code produit : **FSH**
Code couleur : **gris clair**

Introduction

L'hormone folliculostimulante (FSH) est sécrétée par les cellules β de l'antéhypophyse sous le rétrocontrôle de l'hormone gonadotrophine releasing (GnRH) produite par l'hypothalamus. La FSH facilite le développement et le fonctionnement du tissu gonadique, lequel synthétise et sécrète les hormones stéroïdiennes. Le taux circulant de FSH est régulé par un rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus déclenché par les hormones stéroïdiennes. La FSH et la LH sont nécessaires au fonctionnement sexuel normal à la fois chez l'homme et chez la femme, mais les modalités sécrétoires sont différentes suivant le sexe.

Chez la femme mature, la FSH est à l'origine du développement des follicules ovariens. Pendant l'ovulation, le follicule est rompu, il évolue vers le corps jaune en sécrétant l'estradiol et la progestérone lesquels contrôlent le taux circulant de FSH par un rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus. Au cours de la ménopause, il y a diminution de la fonction ovarienne, il en résulte une diminution de la sécrétion d'estradiol. Une baisse du rétrocontrôle négatif initié par la diminution de la concentration d'estradiol entraîne une augmentation significative du taux de FSH circulant.

Chez l'homme mature, la FSH est associée à la stimulation et au maintien de la spermatogenèse. La testostérone et l'estradiol sont à l'origine du rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus et contrôlent ainsi la sécrétion de FSH. La stérilité masculine peut être due à un hypogonadisme lié à une insuffisance testiculaire. L'insuffisance testiculaire peut être liée soit à une insuffisance fonctionnelle acquise ou être le résultat d'une infection microbienne. Quelle que soit son étiologie, l'insuffisance testiculaire a une incidence très nette sur les taux circulants de FSH qui sont augmentés de façon spectaculaire en raison de l'absence de rétrocontrôle négatif.

Principe du test

IMMULITE 2000 FSH est un dosage chimiluminescent immunométrique, en deux étapes, en phase solide.

Cycles d'incubation : 1 × 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.

Les echantillons ne doivent pas etre des plasmas EDTA.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dûs 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 FSH 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 : 50 µl de sérum

Conditions de conservation : 7 jours à 2–8°C ou 2 mois à –20°C.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL
Contient du matériel d'origine humaine. Chaque don de sang ou de composant sanguin humain a été testé selon des méthodes homologuées par la FDA afin de détecter la présence d'anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2), ainsi que la présence d'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) et d'anticorps anti-virus de l'hépatite C (VHC). Les résultats de ces tests étaient négatifs (ou positifs mais de façon non répétable). Aucun test ne peut garantir totalement l'absence de ces agents infectieux ou d'autres agents infectieux ; ce matériel doit être manipulé en respectant les bonnes pratiques de laboratoire et les précautions universelles.[15–17]

AVERTISSEMENT : Ce dispositif contient des substances d'origine animale et doit être manipulé comme un porteur ou transmetteur potentiel de maladie.

Réactifs : conserver les réactifs à 2–8°C. Eliminer les déchets conformément à la réglementation en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-HCV et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

Substrat chimiluminescent : Éviter les contaminations et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

Eau : utiliser uniquement de l'eau distillée ou désionisée.

Matériel fourni

Les composants de la trousse ne peuvent être utilisés que conjointement. Les étiquettes à l'intérieur du coffret sont nécessaires au dosage.

Cartouche de billes FSH (L2FS12)
Avec code-barres. 200 billes revêtues d'un monoclonal murin anti-FSH. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KFS2 : 1 cartouche
L2KFS6 : 3 cartouches

Cartouche à réactif FSH (L2FSA2)
Avec code-barres. 11,5 ml de phosphatase alcaline (intestins de veau)

conjuguée à un anticorps monoclonal murin anti-FSH dans un tampon, avec conservateur. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KFS2 : 1 cartouche
L2KFS6 : 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 FSH (LFSL, LFSH)
2 flacons d'ajusteurs (« haut » et « bas ») de 3,0 ml chacun contenant de la FSH dans une matrice de sérum non humain, avec conservateur. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KFS2 : 1 jeu **L2KFS6 :** 2 jeux

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

Composants du coffret fournis séparément

Diluant échantillon FSH (L2FSZ)
Pour la dilution à bord des échantillons de concentration élevée. 25 ml d'un concentré prêt à l'emploi composé d'une matrice de sérum non humain sans FSH, avec conservateur. Stockage: 30 jours (après ouverture) à 2–8°C ou 6 mois (aliquoté) à –20°C. Éliminer les déchets conformément aux lois en vigueur.

Les étiquttes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 × 100 mm de telle façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2FSZ : 3 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 × 100 mm)
L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

Egalement requis
Eau distillée ou désionisée ; tubes en verre ; contrôles

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000.

Voir le Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000 pour la préparation, le démarrage du système, la dilution, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé :
4 semaines

Echantillons pour le contrôle de qualité :
Suivre les réglementations gouvernementales et les exigences relatives aux accréditations en matière de fréquence de contrôle qualité.

Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) de FSH.

Siemens Healthcare Diagnostics recommande d'utiliser des échantillons de contrôle de qualité en vente dans le commerce et comprenant au moins 2 niveaux (bas et haut). Un niveau de performance satisfaisant est atteint lorsque les valeurs d'analyte obtenues se situent dans l'intervalle de contrôle acceptable du système ou dans un intervalle déterminé par un schéma de contrôle de qualité approprié interne au laboratoire.

Valeurs de référence

Compte tenu de sa relation avec le test IMMULITE FSH (mono/poly) (voir méthode de comparaison), le test doit avoir les mêmes valeurs attendues.

Les valeurs de référence ont été déterminées en utilisant le test IMMULITE FSH (mono/poly) dans une étude internationale incluant des femmes apparemment en bonne santé (âge : 16–44 ans), volontaires pour un prélèvement de sang journalier pendant

un cycle ovulatoire complet. (Voir graphique « Cycle menstruel ».)

		FSH, mUI/ml	
Cycle d'ovulation	*n**	Médiane	Central 95%
Phase folliculaire	54 (762)	6,2	2,8–11,3
Phase folliculaire, Jours 2 à 3	54 (108)	6,6	3,0–14,4
Milieu de cycle	54 (54)	13,6	5,8–21
Phase lutéale	54 (604)	3,4	1,2–9,0

*Nombre de sujets (total des résultats)

Une autre étude réalisée avec le test IMMULITE FSH (mono/poly) a donné les résultats suivants pour les hommes adultes et les femmes postménonausées non traitées. Les domaines pour les femmes sous contraception orale et les femmes postménopausées sous ERT ont été établis sur la corrélation entre le dosage IMMULITE FSH et le dosage Coat-A-Count FSH IRMA.

		FSH, mUI/ml	
Groupe	*n*	Médiane	Central 95%
Hommes	135	3,8	0,7–11,1
Femmes:			
postménauposées*	76	90,5	21,7–153
postménauposées (ERT)	16	27	9,7–111
Sous contraception orale	12	1,7	ND–4,9

*Préliminaires ND : non détectable

Une étude en pédiatrie sur les valeurs de fertilité, réalisée avec le test IMMULITE FSH (mono/poly) dans une clinique du sud ouest des Etats-Unis, a donné les résultats suivants.

			FSH, mUI/ml	
Groupe	Âge (année)	*n*	Médiane	Central 95%
Femmes	Cordon	30	ND	
	0,1–3	57	2,3	0,11–13
	4–9	28	0,8	0,11–1,6
Hommes	Cordon	37	0,24	ND–1,2
	0,1–3	72	0,6	ND–5,5
	4–9	31	0,23	ND–1,9
Combiné	Cordon	67	0,11	ND–1,1
	0,1–3	129	1,1	ND–10
	4–9	59	0,5	ND–1,8

ND : non détectable

Pédiatrique : Des valeurs de référence pour la population pédiatrique (enfants et adolescents) ont été établies pour le test IMMULITE FSH conformément à la directive EP28-A3C[13] du CLSI. Des échantillons ont été prélevés de façon prospective sur des enfants en bonne santé apparente, selon des critères d'inclusion prédéfinis. Les valeurs de référence ont été générées pour les sous-populations en fonction de l'âge et les sous-groupes des stades de Tanner ont été déterminés en fonction du développement physiologique. L'étude a été conçue pour établir des valeurs de référence en fonction du sexee et inclure des nombres approximativement égaux de filles et de garçons dans chaque tranche d'âge ou sous-groupe de stade de Tanner. Le stade de Tanner du sujet a été évalué en fonction du développement de la pilosité pubienne et des organes génitaux/seins. L'échelle proposée par Neinstein et Kaufman a été utilisée pour la détermination des stades de Tanner.[14]

Les intervalles de référence et les valeurs de Tanner sont calculés sur la base d'un intervalle centré à 90% (5^{e} et 95^{e} percentiles). Quand les tailles de l'échantillon se sont révélées insuffisantes pour calculer le 5^{e} ou le 95^{e} percentile, les valeurs minimales ou maximales observées sont présentées dans les tableaux d'intervalles de référence.

Intervalles de référence pédiatriques du test IMMULITE 2000/2000 XPi FSH

			Médiane	Intervalle
Sexe	Âge (ans)	*n*	mUI/ml (UI/l)	
Garçons	2–3	10	0,4	< 0,1* –> 0,7†
	4–9	57	0,6	0,3–1,9
	10–11	56	1,5	0,4–3,8
	12–21	184	2,6	1,2–7,0
Filles	2–3	17	2,7	< 0,8* –> 5,2
	4–9	46	1,5	0,5–3,2
	10–11	55	4,0	1,1–9,0
	12–21	165	4,9	1,6–9,8

*La valeur présentée est la valeur minimale mesurable observée ; la taille de l'échantillon est insuffisante pour calculer une limite au 5^{e} percentile.

† La valeur présentée est la valeur maximale observée ; la taille de l'échantillon est insuffisante pour calculer une limite au 95^{e} percentile.

Intervalles de référence pédiatriques du test IMMULITE 2000/2000 XPi FSH en fonction des stades de Tanner

Sexe	Stade de Tanner	*n*	Médiane	Intervalle
			mUI/ml (UI/l)	
Garçons	1	73	0,8	0,2–2,1
	2	64	1,6	0,3–4,4
	3	63	2,7	1,1–7,5
	4	59	2,6	1,2–10,3
	5	48	2,9	1,3–6,6
Filles	1	72	1,7	0,5–5,2
	2	47	4,4	1,2–9,5
	3	65	5,2	1,8–9,6
	4	47	5,3	1,1–9,4
	5	52	3,8	1,2–14,0

Utiliser ces valeurs *à titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence

Limites

Dans certains cas de stérilité, le traitement avec des gonadotrophines humaines pose des problèmes pour la mesure du taux exact de FSH. La FSH qui est administrée peut entraîner la production par l'organisme d'anticorps anti-FSH qui interfèrent dans le dosage.

Du fait de la sécrétion pulsatile, des échantillons de sérums prélevés le même jour chez une même patiente, peuvent fluctuer largement à l'intérieur du domaine de référence, reflétant ainsi les variations physiologiques plus qu'une erreur technique ou méthodologique.

L'EDTA étant susceptible d'avoir un impact significatif sur les résultats, il ne devrait pas être utilisé comme anti-coagulant.

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec les immunodosages *in vitro*. [Voir Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34:27-33.] Les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre des sérums rares et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en mUI/ml. (En l'absence de précision supplémentaire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques prélevés sur tubes sans anticoagulant, ni gel, ni activateur de la coagulation.)

Domaine de mesure : jusqu'à 170 mUI/ml (8,9 ng/ml). Conforme aux normes de la 2ème IRP 78/549 de l'O.M.S. [code de remplacement intermédiaire 94/632]

Sensibilité analytique : 0,1 mUI/ml

Accoutumance aux doses élevées : aucune jusqu'à 50 000 mUI/ml

Précision : Les échantillons ont été dosés en double essai lors de 40 séries soit un total de 80 résultats. (Voir le tableau « Precision ».)

Test de dilution : les échantillons ont été testés avec des taux de dilution variés (Voir le tableau « Linearity ».)

Test de recuperation : les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions FSH (150, 600 et 1800 mUI/ml). (Voir le tableau « Recovery ».)

Spécificité : le test est hautement spécifique de FSH. (Voir le tableau « Specificity ».)

Bilirubine : La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

Biotine : Les échantillons contenant de la biotine à une concentration de 1500 ng/ml présentent un changement de résultats inférieur ou égal à 10 %. Des concentrations de biotine supérieures à cette valeur peuvent entraîner des résultats d'échantillons patients erronés.

Hémolyse : La présence d'hémoglobine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 600 mg/dl.

Lipémie : La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 3000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

Autres types d'échantillons : Afin de déterminer l'incidence d'autres types d'échantillons, des prélèvements sur 24 volontaires ont été effectués sur tubes sériques secs en plastique Becton Dickinson, sur tubes de hépariné, sur tubes EDTA et sur tubes vacutainers SST. Tous les échantillons ont été dosés avec la procédure IMMULITE 2000 FSH.

(Hépariné) = 1,09 (Sérum) – 0,04 mUI/ml

(SST) = 0,94 (tubes ordinaires) + 0,07 mUI/ml

(EDTA) = 0,75 (Sérum) + 0,50 mUI/ml

Medias :
13,7 mUI/ml (Sérum)
14,8 mUI/ml (Hépariné)
12,9 mUI/ml (SST)
10,8 mUI/ml (EDTA)

Les echantillons ne doivent pas etre des plasmas EDTA.

Comparaison de méthodes 1 : le test IMMULITE 2000 FSH mono/mono a été comparé au dosage IMMULITE 2000 FSH mono/poly sur 429 échantillons de patients (dont les concentrations allaient d'environ 1,0 à 170 mUI/ml. Voir graphique 1.) Par régression linéaire :

(IML 2000 m/m) =
1,06 (IML 2000 m/p) – 1,29 mUI/ml
r = 0,992

Moyennes :
34,9 mUI/ml (IMMULITE 2000 mono/mono)
34,1 mUI/ml (IMMULITE 2000 mono/poli)

Comparaison de méthodes 2 : le test IMMULITE 2000 FSH mono/mono a été comparé au test IMMULITE FSH mono/poly sur 289 échantillons. (Intervalle de concentrations : 1,0 à 170 mUI/ml environ. Voir graphique 2.) Par régression linéaire :

(IML 2000 m/m) = 1,04 (IML m/p) – 0,06 mUI/ml
r = 0,991

Moyennes :
36,1 mUI/ml (IMMULITE 2000 mono/mono)
34,9 mUI/ml (IMMULITE mono/poly)

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

Le Système Qualité de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. est certifié ISO 13485.

Italiano

FSH

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa dell'FSH nel siero, come un ausilio nella diagnosi e cura delle ghiandole pituitarie e gonadiche.

Numero di Codice: **L2KFS2** (200 test), **L2KFS6** (600 test)

Codice del Test: **FSH**
Colore: **Grigio chiaro**

Riassunto e Spiegazione del Test

L'ormone follicolo stimolante (follitropina, FSH) è secreto dalle cellule b dell'ipofisi anteriore sotto il controllo della gonadotropina prodotta dall'ipotalamo. L'FSH facilita lo sviluppo ed il mantenimento dei tessuti gonadici che sintetizzano e secernono gli ormoni steroidei. I livelli di FSH in circolo sono controllati da un meccanismo di feedback negativo sull'ipotalamo da parte degli ormoni steroidei. Benchè l'FSH e l'LH siano richiesti per una funzionalità sessuale normale sia nell'uomo che nella donna, i meccanismi di rilascio sono molto diversi nei due sessi.

Nella donna adulta, l'FSH avvia la crescita e lo sviluppo dei follicoli ovarici. Durante l'ovulazione, quando il follicolo si rompe, il follicolo, chiamato corpo luteo, secerne l'estradiolo ed il progesterone, che controllano i livelli circolanti di FSH con un effetto di feedback negativo sull'ipotalamo. In menopausa, con una diminuzione della funzionalità ovarica, si ha una conseguente diminuzione della secrezione di estradiolo. A causa della mancanza di feedback negativo, con una diminuzione dell'estradiolo, i livelli di FSH in circolo aumentano notevolmente.

Nell'uomo adulto, l'FSH è associato alla stimolazione ed al mantenimento della spermatogenesi. Il Testosterone e l'estradiolo hanno il ruolo di fornire il segnale di feedback negativo all'ipotalamo per il controllo del rilascio di FSH. L'infertilità maschile può essere dovuta all'ipogonadismo quale risultato di anomalie primarie dei testicoli. Le anomalie dei testicoli possono essere un'incapacità di portare a termine la maturazione delle cellule spermatiche o il risultato di danni alle cellule germinali. Qualsiasi sia l'eziologia, le condizioni di ipogonadismo portano ad un drammatico innalzamento dei livelli di FSH in circolo, dovuti alla mancanza di un feedback negativo.

Principio del Dosaggio

IMMULITE 2000 FSH è un dosaggio immunometrico in chemiluminescenza in fase solida a doppio sito.

Cicli d'incubazione: 1 × 30 minuti

Prelievo dei Campioni

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

I campioni emolizzati posson indicare il trattamento non idoneo del campione prima dell'arrivo al laboratorio; per questo motivo, i risultati devono essere interpretati con prudenza.

I campioni di plasma EDTA non devono essere utilizzati.

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 FSH non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume richiesto: 50 µL di siero

Conservazione: 7 giorni a 2–8°C o 2 mesi a –20°C.

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.



CAUTELA! POTENZIALE RISCHIO BIOLOGICO
Contiene materiale di origine umana. Ciascuna donazione di sangue o componenti ematici umani è stata testata con metodi approvati dalla FDA per rilevare la presenza di anticorpi al virus dell'immunodeficienza umana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2), nonché per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e gli anticorpi al virus dell'epatite C (HCV). I test sono risultati negativi (non ripetutamente reattivi). Nessun test offre assicurazione completa che questi o altri agenti infettivi siano assenti; questo materiale va trattato utilizzando le corrette prassi di laboratorio e le precauzioni universali.[15–17]

CAUTELA: Questo dispositivo contiene materiale di origine animale e deve essere trattato come un potenziale vettore e trasmettitore di malattie.

Reagenti: Conservare a 2–8°C. Scartare in conformità alle leggi applicabili.

Seguire le precauzioni universali, e maneggiare tutti i componenti come se fossero capaci di trasmettere agenti infettivi. Sono stati analizzati i materiali di sorgente dal sangue umano e sono stati trovati non reattivi per sifilide; per anticorpi ad HIV 1 e 2; per l'antigeno superficiale dell'epatite B; e per anticorpi all'epatite C.

E' stata aggiunta Sodio Azide a concentrazioni inferiori a 0,1 g/dL come conservante. Al momento dell'eliminazione, irrorare con molta acqua per evitare la formazione di azidi metalliche potenzialmente esplosive nelle tubature di piombo e di rame.

Sottostrato chemiluminescente: Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce del sole diretta. (Vedere l'inserimento.)

Acqua: Utilizzare 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 FSH (L2FS12)
Con codice a barre. 200 sferette coattate con monoclonale di ratto anti-FSH. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KFS2: 1 confezione
L2KFS6: 3 confezioni

Porta Reagente FSH (L2FSA2)
Con codice a barre. 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con un anticorpo monoclonale murino anti-FSH in un tampone, con conservanti. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KFS2: 1 Porta Reagente
L2KFS6: 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 FSH (LFSL, LFSH)
Due fiale (bassa ed alta), ciascuno con 3,0 mL ciascuno di FSH e di matrice di siero non umano, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, e per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KFS2: 1 set **L2KFS6:** 2 set

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste sulle provette delle aliquote (fornite col kit) cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore.

Componenti del Kit Forniti Separatamente

Diluente dell'FSH (L2FSZ)
Per la diluizione interna di campioni ad alta concentrazione. 25 mL di un concentrato pronto all'uso, composto da matrice di siero non umano priva di FSH, con conservanti. Conservazione: 30 giorni (dopo l'apertura) a 2–8°C oppure 6 mesi (in aliquote) a –20°C. Eliminare secondo quanto stabilito dalle relative leggi.

Vengono Fornite Le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare una etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm, cosicchè il codice a barre possa essere letto dal lettore interno.
L2FSZ: 3 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 × 100 mm) per Diluente del Campione
L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluente del Campione

Materiali richiesti
Acqua distillata o deionizzata; provette di vetro; controlli

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 4 settimane

Controllo di Qualità: Per la frequenza del controllo di qualità seguire le normative in vigore o i requisiti di accreditamento.

Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (alto e basso) di FSH.

Siemens Healthcare Diagnostics consiglia l'utilizzo di materiali di controllo della qualità disponibili in commercio con almeno 2 livelli (bassi e alti). Un livello soddisfacente di prestazioni si raggiunge quando i valori dell'analita ottenuti rientrano nei range di accettabilità del Controllo per il sistema o nei range stabiliti all'interno del laboratorio attraverso un programma appropriato di valutazione del controllo di qualità.

Valori Attesi

Sulla base del suo rapporto con il dosaggio IMMULITE FSH (mono/poli) (Vedi Comparazione di Metodi 2), ci si attende che il dosaggio IMMULITE FSH abbia essenzialmente gli stessi range di riferimento.

I range di riferimento sono stati ottenuti utilizzando il kit IMMULITE FSH (mono/poli) all'interno di uno studio

multi-nazionale che ha coinvolto donne in apparente buono stato di salute (età: 16–44 anni), che volontariamente si sono sottoposte ad un prelievo di sangue giornaliero lungo un intero ciclo ovulatorio.

		FSH, mIU/mL	
Cicli Ovulatori	*n**	Mediana	Centrale 95%
Fase follicolare	54 (762)	6,2	2,8–11,3
Fase follicolare, Giorni da 2 a 3	54 (108)	6,6	3,0–14,4
Ciclo centrale	54 (54)	13,6	5,8–21
Fase luteinica	54 (604)	3,4	1,2–9,0

*Numero di pazienti (numero totale di risultati)

La tabella sottostante riassume i risultati per pazienti maschi adulti e (non trattati) e per donne postmenopausa ottenuti con con il Kit IMMULITE FSH (mono/poli). I range per donne che utilizzano contraccettivi orali e per donne in postmenopausa su ERT si basano sulla relazione del dosaggio con il kit Coat-A-Count FSH IRMA.

		FSH, mIU/mL	
Gruppo	*n*	Mediana	Centrale 95%
Uomini	135	3,8	0,7–11,1
Donne			
post menopausale*	76	90,5	21,7–153
post menopausale (ERT)	16	27	9,7–111
Contraccettivi orali	12	1,7	ND–4,9

*Preliminare ND: non determinable

Uno studio inter-disciplinare su valori di fertilità pediatrica effettuato con il kit IMMULITE FSH (mono/poly) presso una Clinica nel Sud-Ovest degli Stati Uniti ha prodotto i seguenti risultati.

			FSH, mIU/mL	
Gruppo	Età (anni)	*n*	Mediana	Centrale 95%
Donne	Cordone	30	ND	
	0,1–3	57	2,3	0,11–13
	4–9	28	0,8	0,11–1,6
Uomini	Cordone	37	0,24	ND–1,2
	0,1–3	72	0,6	ND–5,5
	4–9	31	0,23	ND–1,9
Combinato	Cordone	67	0,11	ND–1,1
	0,1–3	129	1,1	ND–10
	4–9	59	0,5	ND–1,8

ND: non determinable

Popolazione pediatrica: sono stati stabiliti gli intervalli di riferimento per la popolazione pediatrica (bambini e adolescenti) per il dosaggio IMMULITE FSH in conformità alle linee guida CLSI EP28-A3C.[13] I campioni sono stati raccolti in modo prospettico da soggetti pediatrici apparentemente sani, utilizzando criteri di inclusione predefiniti. I valori di riferimento per le sottopopolazioni sono stati generati sulla base di sottogruppi suddivisi per età e stadio di Tanner sulla base dello sviluppo fisiologico. Lo studio è stato sviluppato per determinare i valori di riferimento tra la popolazione maschile e femminile, al fine di includere un numero approssimativamente simile di maschi e femmine all'interno di ciascun sottogruppo per età o stadio di Tanner. Lo stadio di Tanner del soggetto è stato valutato sulla base della peluria pubica e dello sviluppo dei genitali/del seno. È stata utilizzata la scala proposta da Neinstein e Kaufman per determinare gli stadi di Tanner.[14]

Gli intervalli di riferimento e i valori relativi allo stadio di Tanner si basano sul 90% centrale (5° e 95° percentile). Laddove il numero di campioni non è stato sufficiente per poter effettuare il calcolo del 5° o 95° percentile, vengono indicati i valori massimo e minimo osservati nelle tabelle degli Intervalli di riferimento.

Intervalli di riferimento pediatrici di FSH IMMULITE 2000/2000 XPi

Genere	Età (anni)	*n*	Mediana	Intervallo
			mIU/mL (IU/L)	
Maschi	2−3	10	0,4	< 0,1*–> 0,7†
	4−9	57	0,6	0,3−1,9
	10−11	56	1,5	0,4−3,8
	12−21	184	2,6	1,2−7,0
Femmine	2−3	17	2,7	< 0,8*–> 5,2
	4−9	46	1,5	0,5−3,2
	10−11	55	4,0	1,1−9,0
	12−21	165	4,9	1,6−9,8

*È indicato il valore minimo refertabile osservato; dimensione dei campioni insufficiente per il calcolo di un limite del 5° percentile.

† È indicato il valore massimo refertabile osservato; dimensione dei campioni insufficiente per il calcolo di un limite del 95° percentile.

Intervalli di riferimento pediatrici di FSH IMMULITE 2000/2000 XPi per stadio di Tanner

Genere	Stadio di Tanner	*n*	Mediana	Intervallo
			mIU/mL (IU/L)	
Maschi	1	73	0,8	0,2−2,1
	2	64	1,6	0,3−4,4
	3	63	2,7	1,1−7,5
	4	59	2,6	1,2−10,3
	5	48	2,9	1,3−6,6
Femmine	1	72	1,7	0,5−5,2
	2	47	4,4	1,2−9,5
	3	65	5,2	1,8−9,6
	4	47	5,3	1,1−9,4
	5	52	3,8	1,2−14,0

Detti valori dovrebbero essere considerati solo come *suggerimento*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

Limiti

In alcuni casi di infertilità, la cura con gonadotropine potrebbe causare delle difficoltà nella misurazione accurata dei livelli di FSH. L'FSH somministrato potrebbe far creare nel paziente anticorpi anti-FSH stesso, che influenzerebbero direttamente l'analisi.

A cause delle secrezioni intermittenti, i campioni ottenuti lo stesso giorno dallo stesso paziente possono flutturare in maniera considerevole all'interno del range di riferimento, riflettendo variazioni fisiologiche piuttosto che errori nella tecnica o nella metodologia.

Perchè l'EDTA avrebbe un effetto significativo sui risultati, non dovrebbe essere utilizzato come un anticoagulante.

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi *in vitro*. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34: 27–33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedi tavole e grafici per i dati *rappresentativi*. I risultati sono indicati in mIU/mL. (Laddove non diversamente specificato, tutti i dati sono stati generati su campioni di siero raccolti in provette senza gel separatore o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.)

Range di Calibrazione: fino a 170 mIU/mL (8,9 ng/mL). Standardizzata in termini di WHO secondo IRP 78/549 [codice sostitutivo ad interim 94/632]

Sensibilità Analitica: 0,1 mIU/mL

Effetto Gancio a Dosi Elevate: Nessun effetto fino a 50 000 mIU/mL

Precisione: I campioni sono stati dosati in duplicato in 40 sedute per un totale di 80 replicati. (Vedi tabella "Precision".)

Linearità: Sono stati dosati campioni in varie forme diluite. (Vedi la Tabella "Linearity" per dati rappresentantivi.)

Recupero: Sono stati dosati campioni ai quali sono state aggiunte tre soluzioni FSH (150, 600 e 1800 mIU/mL) 1:19. (Vedi la Tabella "Recovery" per dati rappresentantivi.)

Specificità: Il dosaggio è estremamente specifico per l'FSH. (Vedi la Tabella "Specificity".)

Bilirubina: La presenza di bilirubina in concentrazioni fino a 200 mg/L non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Biotina: I campioni che contengono biotina a una concentrazione di 1500 ng/mL dimostrano una variazione nei risultati inferiore o pari al 10%. Le concentrazioni di biotina superiori a questo valore potrebbero portare a risultati non corretti dei campioni dei pazienti.

Emolisi: La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 600 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Lipemia: La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 3000 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Tipo di Campione Alternativo: Per determinare l'effetto di campioni alternativi, è stato prelevato del sangue da 24 volontari in provette semplici di plastica per il siero Becton Dickinson, in provette eparinizzate, EDTA e vacutainer SST. Tutti i campioni sono stati dosati con il dosaggio IMMULITE 2000 FSH.

(Eparina) = 1,09 (Siero) – 0,04 mIU/mL

(SST) = 0,94 (tubi semplici) + 0,07 mIU/mL

(EDTA) = 0,75 (Siero) + 0,50 mIU/mL

Valore medio:
13,7 mIU/mL (Siero)
14,8 mIU/mL (Eparina)
12,9 mIU/mL (SST)
10,8 mIU/mL (EDTA)

I campioni di plasma EDTA non devono essere utilizzati.

Comparazione di Metodi 1: La IMMULITE 2000 FSH mono/mono prova è stato paragonato all'FSH mono/poli IMMULITE 2000 su 429 campioni di pazienti. (Range di concentrazione: da 1,0 fino a 170 mIU/mL. Vedere la grafica 1.) Mediante regressione lineare:

(IML 2000 m/m) =
1,06 (IML 2000 m/p) – 1,29 mIU/mL
r = 0,992

Valore medio:
34,9 mIU/mL (IMMULITE 2000 mono/mono)
34,1 mIU/mL (IMMULITE 2000 mono/poli)

Comparazione di Metodi 2: Il dosaggio IMMULITE 2000 FSH mono/mono è stato comparato al dosaggio IMMULITE FSH mono/poli in 289 campioni. (Gamma di concentrazione: da 1,0 fino a 170 mIU/mL. Vedi grafico 2.) Mediante regressione lineare:

(IML 2000 m/m) = 1,04 (IML m/p) – 0,06 mIU/mL
r = 0,991

Valore medio:
36,1 mIU/mL (IMMULITE 2000 mono/mono)
34,9 mIU/mL (IMMULITE mono/poli)

Assistenza Tecnica

Contattare il distributore nazionale.

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

FSH

Utilização: Para a medição quantitativa da FSH hormona folículo-estimulante em soro, em diagnósticos *in vitro* com os Analisadores dos Sistemas IMMULITE 2000, no auxílio do diagnóstico diferencial de doenças da pituitária e gónadas.

Números de catálogo: **L2KFS2** (200 testes), **L2KFS6** (600 testes)

Código do teste: **FSH**
Cor: **Cinzento claro**

Sumário e explicação do teste

A hormona folículo-estimulina (FSH – follicle stimulating hormone) é segregada pelas células da pituitária anterior sob controlo da hormona libertadora da gonadotropina (GRH – gonadotropin releasing hormone) produzida no hipotálamo. A FSH facilita o desenvolvimento e manutenção dos tecidos da gónada, que sintetizam e

segregam hormonas esteróides. Os valores de FSH circulante são controlados por mecanismos de “feed-back” negativo, no hipotálamo, por hormonas esteróides. Embora as FSH e LH sejam essenciais para o funcionamento sexual normal nos homens e nas mulheres, o padrão de secreção é muito diferente para os dois sexos.

Na mulher adulta, a FSH inicia o crescimento e o desenvolvimento do folículo do ovário. Durante a ovulação, o folículo sofre ruptura, passando a chamar-se *corpus luteum*, e segrega estradiol e progesterona, que controlam os níveis de FSH por “feed-back” negativo no hipotálamo. Na menopausa, com diminuição do funcionamento do ovário, há um consequente decréscimo da secreção de estradiol. Devido à falta de “feed-back” negativo, com a diminuição de estradiol, os níveis de FSH circulante tornam-se significativamente mais altos.

No homem adulto, a FSH está associada à estimulação e manutenção da espermatogénese. A testosterona e o estradiol têm a função de fornecer o sinal de “feed-back” negativo ao hipotálamo, controlando os valores de FSH circulante. A infertilidade nos homens pode dever-se ao hipogonadismo como resultado de uma deficiência testicular primária. Uma deficiência testicular pode dever-se a uma disfunção na maturação ou a danos das células germinativas. Apesar da etiologia, as condições do hipogonadismo têm como resultado final o aumento dramático dos níveis de FSH circulante, devido à falta do efeito de “feed-back” negativo.

Princípio do Procedimento

A FSH IMMULITE 2000 é um ensaio imunométrico em fase sólida quimioluminescente de duas voltas.

Ciclos de incubação: 1 × 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.

O plasma EDTA não deve ser usado como um tipo de amostra.

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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 FSH não foram ainda testados com todas as possiveis 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: 50 µL de soro

Estabilidade: 7 dias a 2–8°C, ou 2 meses a –20°C.

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

PRECAUÇÃO! POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO
Contém material de origem humana. Cada dádiva de sangue ou componente de sangue humano foi testada pelos métodos aprovados pela FDA quanto à presença de anticorpos dos vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e tipo 2 (VIH-2), bem como do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e dos anticorpos do vírus da hepatite C (VHC). Os resultados dos testes foram negativos (não repetidamente reativos). Nenhum teste oferece total garantia de que estes ou outros agentes infeciosos estejam ausentes; este material deve ser manuseado de acordo com as boas práticas laboratoriais e precauções universais[15–17].

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como um possível portador e transmissor de doenças.

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.

A azida sódica foi adicionada como conservante a concentrações inferiores a 0,1 g/dL. Quando eliminar o produto, utilize água em abundância para evitar a acumulação de azidas metálicas potencialmente explosivas nas canalizações de chumbo e cobre.

Substrato quimioluminescente: Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula).

Água: Utilize água destilada ou desionizada.

Materiais fornecidos

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. As etiquetas no interior das caixas são necessárias para o ensaio.

Embalagem de pérolas de FSH (L2FS12)
Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com anticorpo monoclonal de monoclonal de rato anti-FSH. Estável até à data de validade a 2–8°C.
L2KFS2: 1 embalagem
L2KFS6: 3 embalagens

Embalagem de reagentes de FSH (L2FSA2)
Com código de barras. Contém 11,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugado com anticorpo murino monoclonal anti-FSH tamponizado, com conservante. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KFS2: 1 embalagem
L2KFS6: 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 FSH (LFSL, LFSH)
Contém dois frascos (nível alto e baixo), de 3,0 mL cada, com FSH em matriz de soro não-humano, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KFS2: 1 conjunto **L2KFS6:** 2 conjuntos

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas da alíquota apropriadas (fornecidas com o "kit") em tubos de amostra, de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Diluente de amostra para FSH (L2FSZ)
Para diluição de amostras no aparelho. 25 mL de concentrado, pronto a usar, constituido por uma matriz de soro não humano livre de FSH, com conservante. Estabilidade: 30 dias (após abertura) a 2–8°C ou 6 meses (em alíquotas) a –20°C. Elimine de acordo com as normas aplicadas.

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2FSZ: 3 etiquetas

L2SUBM: Substrato quiomioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Kit de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)
L2ZT: 250 Tubos de diluente da amostra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

Também necessário
Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos

Procedimento do doseamento

Ter em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido

no Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000.

Consultar o Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000 relativamente aos procedimentos de preparação, diluição, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável: 4 semanas

Amostras de controlo de qualidade: Observe os regulamentos governamentais ou os requisitos de acreditação quanto à frequência do controlo de qualidade.

Utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de FSH.

A Siemens Healthcare Diagnostics recomenda a utilização de materiais de controlo de qualidade comercialmente disponíveis com pelo menos 2 níveis (baixo e alto). É alcançado um nível de desempenho satisfatório quando os valores dos analitos obtidos estiverem dentro dos Limites de Controlo Aceitáveis para o sistema ou dentro dos limites estabelecidos e determinados pelo regime de controlo de qualidade laboratorial interno adequado.

Valores de Referência

Baseado na sua relação com a FSH IMMULITE (mono/poli) (ver comparação de métodos 2), pode esperar-se que o doseamento tenha valores de referência indênticos.

Os seguintes valores de referência foram obtidos utilizando o FSH IMMULITE (mono/poli) através de um estudo multi-nacional em mulheres saudáveis (idade: 16–44 anos), as quais se voluntarizaram a uma análise sanguínea diária durante um ciclo ovulatório completo. (Veja “Ciclo Menstrual” graph.)

		FSH, mIU/mL	
Ciclos Ovulatórios	*n**	Mediano	Central 95%
Fase folicular	54 (762)	6,2	2,8–11,3
Fase folicular, Dias 2 a 3	54 (108)	6,6	3,0–14,4
Meio ciclo	54 (54)	13,6	5,8–21
Fase luteal	54 (604)	3,4	1,2–9,0

*Número de indivíduos (número total de resultados)

Um outro estudo realizado com o FSH IMMULITE (mono/poli) forneceu os seguintes resultados para homens adultos e mulheres pós-menopáusicas sem terapêutica de substituição. Os valores para mulheres sob contraceptivos orais e mulheres pós-menopáusicas com terapêutica de substituição são baseados na relação do FSH IMMULITE com o FSH Coat-A-Count IRMA.

		FSH, mIU/mL	
Sexo	*n*	Mediano	Central 95%
M.	135	3,8	0,7–11,1
F.			
Pós-menopausa*	76	90,5	21,7–153
Pós-menopausa (TSE)	16	27	9,7–111
Anticoncepcionais orais	12	1,7	ND–4,9

*Preliminar ND: não é detectável

Um estudo cruzado de valores de fertilidade pediátricos realizado com o FSH IMMULITE (mono/poli) numa clínica de “parto” no sudoeste dos E.U.A., forneceu os seguintes resultados.

			FSH, mIU/mL	
Sexo	Idade (anos)	*n*	Mediano	Central 95%
F.	Cordão	30	ND	
	0,1–3	57	2,3	0,11–13
	4–9	28	0,8	0,11–1,6
M.	Cordão	37	0,24	ND–1,2
	0,1–3	72	0,6	ND–5,5
	4–9	31	0,23	ND–1,9
M./F.	Cordão	67	0,11	ND–1,1
	0,1–3	129	1,1	ND–10
	4–9	59	0,5	ND–1,8

ND: não é detectável

Pediátrico: Os intervalos de referência para a população pediátrica (crianças e adolescentes) foram estabelecidos para o ensaio IMMULITE FSH em conformidade com a diretriz EP28-A3C do CLSI[13].
A colheita de amostras foi efetuada prospetivamente em indivíduos pediátricos aparentemente saudáveis utilizando critérios de inclusão predefinidos. Foram gerados valores de referência para subpopulações com base na idade e subgrupos de estádios Tanner

com base no desenvolvimento fisiológico. O estudo foi concebido para determinar os valores de referência entre géneros e para incluir números aproximadamente semelhantes de indivíduos do sexo masculino e do sexo feminino em cada faixa etária ou subgrupo de estádios Tanner. O estádio Tanner do indivíduo foi avaliado com base no desenvolvimento de pelos públicos e genitália/peito. Para a determinação dos estádios Tanner, foi utilizada a escala proposta por Neinstein e Kaufman[14].

Os intervalos de referência e os valores de Tanner baseiam-se nos 90% centrais (5.º e 95.º percentis). Embora as amostras fossem de tamanho insuficiente para calcular o 5.º ou o 95.º percentil, os valores mínimo e máximo observados são apresentados nas tabelas de Intervalos de referência.

Intervalos de referência pediátricos do IMMULITE 2000/2000 XPi FSH

Sexo	Idade (anos)	*N*	Mediana	Intervalo
			mIU/mL (IU/L)	
Sexo masculino	2–3	10	0,4	<0,1*–> 0,7†
	4–9	57	0,6	0,3–1,9
	10–11	56	1,5	0,4–3,8
	12–21	184	2,6	1,2–7,0
Sexo feminino	2–3	17	2,7	<0,8*–> 5,2
	4–9	46	1,5	0,5–3,2
	10–11	55	4,0	1,1–9,0
	12–21	165	4,9	1,6–9,8

*O valor apresentado é o valor mínimo reportável observado; amostra de tamanho insuficiente para calcular o limite do 5.º percentil.

† O valor apresentado é o valor máximo observado; amostra de tamanho insuficiente para calcular o limite do 95.º percentil.

Intervalos de referência pediátricos do IMMULITE 2000/2000 XPi FSH por estádio Tanner

Sexo	Estádio Tanner	*N*	Mediana	Intervalo
			mIU/mL (IU/L)	
Sexo masculino	1	73	0,8	0,2–2,1
	2	64	1,6	0,3–4,4
	3	63	2,7	1,1–7,5
	4	59	2,6	1,2–10,3
	5	48	2,9	1,3–6,6
Sexo feminino	1	72	1,7	0,5–5,2
	2	47	4,4	1,2–9,5
	3	65	5,2	1,8–9,6
	4	47	5,3	1,1–9,4
	5	52	3,8	1,2–14,0

Estes valores devem ser considerados apenas como *directrizes*. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores.

Limitações

Em certos casos de infertilidade, o tratamento com gonadotropinas humanas, apresenta um enorme problema para o doseamento exacto dos níveis de FSH. A FSH que é administrada pode provocar a produção de anticorpos anti-FSH no paciente, que irão interferir diretamente com o doseamento.

Derivado a uma secreção pulsátil, amostras do mesmo paciente recolhidas no mesmo dia, podem flutuar amplamente dentro de uma zona de referência reflectindo uma variação fisiológica e não erros na técnica ou na metodologia.

Como EDTA teria um efeito significativo nos resultados, não deve ser usado como anticoagulante.

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 apresentados em mIU/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.

Calibração: Até 170 mIU/mL (8,9 ng/mL). Padronizado de acordo com os termos do WHO 2nd IRP 78/549 [código de substituição interino 94/632]

Sensibilidade Analítica: 0,1 mIU/mL

Efeito Hook de Alta Dose: Nenhum até 50 000 mIU/mL

Precisão: Amostras foram ensaiadas em duplicado 40 vezes num total de 80 réplicas. (Consulte a tabela "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 FSH (150, 600 e 1800 mIU/mL) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

Especificidade: O doseamento é específico para FSH. (Ver tabela de "Specificity".)

Bilirrubina: A presença de bilirrubina em concentrações até 200 mg/L não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Biotina: As amostras que contenham biotina a uma concentração de 1500 ng/ml demonstram uma alteração igual ou inferior a 10% nos resultados. Concentrações de biotina superiores a esta poderão originar resultados incorretos para as amostras de doentes.

Hemolise: A presença de hemoglobina em concentrações até 600 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipemia: A presença de triglicéridos em concentrações até 3000 mg/dL não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Tipo de amostra alternativa: Para determinar o efeito de amostras alternativas, foi colhido sangue de 24 voluntários, em tubos lisos de plástico para soro, com EDTA, heparinizados e tubos de vacum SST da Becton Dickinson. Todas as amostras foram doseadas com o IMMULITE 2000 FSH.

(Heparina) = 1,09 (Soro) – 0,04 mIU/mL

(SST) = 0,94 (tubos simples) + 0,07 mIU/mL

(EDTA) = 0,75 (Soro) + 0,50 mIU/mL

Médias:
13,7 mIU/mL (Soro)
14,8 mIU/mL (Heparina)
12,9 mIU/mL (SST)
10,8 mIU/mL (EDTA)

O plasma EDTA não deve ser usado como um tipo de amostra.

Comparação de métodos 1: O FSH IMMULITE 2000 mono/mono doseamento foi comparado ao FSH IMMULITE 2000 mono/poli em 429 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 1,0 a 170 mIU/mL. Consulte o gráfico 1.) Regressão linear:

(IML 2000 m/m) =
1,06 (IML 2000 m/p) – 1,29 mIU/mL
r = 0,992

Médias:
34,9 mIU/mL (IMMULITE 2000 mono/mono)
34,1 mIU/mL (IMMULITE 2000 mono/poli)

Comparação de métodos 2: O IMMULITE 2000 FSH mono/mono doseamento foi comparado ao IMMULITE FSH mono/poly em 289 amostras. (Zona de trabalho: aproximadamente 1,0 a 170 mIU/mL. Ver gráfico 2.) Regressão linear:

(IML 2000 m/m) = 1,04 (IML m/p) – 0,06 mIU/mL
r = 0,991

Médias:
36,1 mIU/mL (IMMULITE 2000 mono/mono)
34,9 mIU/mL (IMMULITE mono/poli)

Assistência Técnica

Contacte o seu distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE and Coat-A-Count are trademarks of Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2018 Siemens Healthcare Diagnostics.
All rights reserved.

Made in: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

2018-03-15

PIL2KFS – 19

cc#EU23262, cc#EU23262A, cc#EU23343

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol Definition

IVD

En: *In vitro* diagnostic medical device
De: Medizinisches Gerät zur *In-vitro* Diagnose
Es: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
Fr: Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
It: Dispositivo medico per diagnostica *in vitro*
Pt: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

REF

En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo

En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante

EC REP

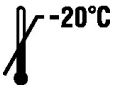
En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia

CE

En: CE Mark
De: CE-Kennzeichen
Es: Marca CE
Fr: Marque CE
It: Marchio CE
Pt: Marca CE

CE 0088

En: CE Mark with identification number of notified body
De: CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle
Es: Marca CE con número de identificación del organismo notificado
Fr: Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié
It: Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato
Pt: Marca CE, com número de identificação do organismo notificado

Symbol	Definition
	**En:** Consult instructions for use **De:** Bedienungshinweise beachten **Es:** Consulte las instrucciones de uso **Fr:** Consulter le mode d'emploi **It:** Consultare le istruzioni per l'uso **Pt:** Consulte as instruções de utilização
	**En:** Caution! Potential Biohazard **De:** Vorsicht! Biologisches Risikomaterial **Es:** ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial **Fr:** Avertissement ! Risque biologique potentiel **It:** Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico **Pt:** Atenção! Potenciais Riscos Biológicos
	**En:** Temperature limitation (2–8°C) **De:** Temperaturgrenze (2–8°C) **Es:** Limitación de temperatura (2–8°C) **Fr:** Limites de température (2–8°C) **It:** Limiti di temperatura (2–8°C) **Pt:** Limites de temperatura (2–8°C)
	**En:** Upper limit of temperature (≤ -20°C) **De:** Obere Temperaturgrenze (≤ -20°C) **Es:** Límite superior de temperatura (≤ -20°C) **Fr:** Limite supérieure de température (≤ -20°C) **It:** Limite superiore di temperatura (≤ -20°C) **Pt:** Limite máximo de temperatura (≤ -20°C)
	**En:** Lower limit of temperature (≥ 2°C) **De:** Mindesttemperatur (≥ 2°C) **Es:** Límite inferior de temperatura (≥ 2°C) **Fr:** Limite inférieure de température (≥ 2°C) **It:** Limite inferiore di temperatura (□≥ 2°C) **Pt:** Limite mínimo de temperatura (≥ 2°C)

Symbol	Definition
	**En:** Do not freeze (> 0°C) **De:** Nicht einfrieren (> 0°C) **Es:** No congelar (> 0°C) **Fr:** Ne pas congeler (> 0°C) **It:** Non congelare (> 0°C) **Pt:** Não congelar (> 0°C)
	**En:** Do not reuse **De:** Nicht zur Wiederverwendung **Es:** No reutilizar **Fr:** Ne pas réutiliser **It:** Non riutilizzare **Pt:** Não reutilizar
	**En:** Keep away from sunlight **De:** Vor Sonneneinstrahlung schützen **Es:** Proteger de la luz solar **Fr:** Maintenir hors de portée de la lumière du soleil **It:** Non esporre alla luce del sole **Pt:** Manter afastado da luz solar
	**En:** Batch code **De:** Chargenbezeichnung **Es:** Número de lote **Fr:** Numéro de code du lot **It:** Codice lotto **Pt:** Código de lote
	**En:** Contains sufficient for (n) tests **De:** Es reicht für (n) Tests **Es:** Contiene suficiente para (n) pruebas **Fr:** Contient du matériel suffisant pour (n) tests **It:** Contiene materiale sufficiente per (n) test **Pt:** Contém o suficiente para (n) testes
2008-01	**En:** Date format (year-month) **De:** Datumsformat (Jahr-Monat) **Es:** Formato de fecha (año-mes) **Fr:** Format de la date (année-mois) **It:** Formato data (anno-mese) **Pt:** Formato de data (ano-mês)
	**En:** Use by **De:** Verwendbar bis **Es:** Fecha de caducidad **Fr:** A utiliser avant **It:** Usare entro **Pt:** Usar até
	**En:** Health Hazard **De:** Gesundheitsgefährdung **Es:** Peligro para la salud **Fr:** Dangereux pour la santé **It:** Pericolo per la salute **Pt:** Perigo para a saúde



En: Exclamation Mark
De: Ausrufezeichen
Es: Signo de exclamación
Fr: Point d'exclamation
It: Punto esclamativo
Pt: Ponto de exclamação



En: Corrosion
De: Korrosion
Es: Corrosión
Fr: Corrosion
It: Corrosione
Pt: Corrosão



En: Skull and Crossbones
De: Totenkopf mit gekreuzten Knochen
Es: Calavera y tibias cruzadas
Fr: Tête de mort sur tibias croisés
It: Teschio e tibie incrociate
Pt: Caveira sobre tíbias cruzadas



En: Environment
De: Umwelt
Es: Medio ambiente
Fr: Environnement
It: Ambiente
Pt: Ambiente

BEAD PACK

En: Bead Pack
De: Kugel-Container
Es: Cartucho de bolas
Fr: Cartouche de billes
It: Contenitore di biglie
Pt: Embalagem de esferas

TEST UNIT

En: Test Unit
De: Testeinheit
Es: Unidades de análisis
Fr: Unité de test
It: Test Unit
Pt: Unidades de Teste

REAG WEDGE
REAG WEDGE A
REAG WEDGE B
REAG WEDGE D

En: Reagent Wedge
De: Reagenzbehälter
Es: Vial de reactivo
Fr: Cartouche à réactif
It: Porta Reagente
Pt: Embalagem de Reagente

ADJUSTOR

En: Adjustor
De: Kalibrator
Es: Ajustador
Fr: Ajusteur
It: Calibrator
Pt: Ajuste

ADJUSTOR L

En: Adjustor, low
De: Kalibrator, niedrig
Es: Ajustador, bajo
Fr: Ajusteur, bas
It: Calibrator, basso
Pt: Ajuste, baixo

ADJUSTOR H

En: Adjustor, high
De: Kalibrator, hoch
Es: Ajustador, alto
Fr: Ajusteur, haut
It: Calibrator, alto
Pt: Ajuste, alto

ADJUSTOR AB

En: Adjustor Antibody
De: Kalibrator Antikörper
Es: Anticuerpo Ajustador
Fr: Anticorps de l'Ajusteur
It: Anticorpo del Calibratore
Pt: Anticorpo do Ajuste

DIL

En: Sample Diluent
De: Proben-verdünnungsreagenz
Es: Diluyente para muestras
Fr: Diluant échantillon
It: Diluente per Campioni
Pt: Diluente de Amostra

CONTROL
CONTROL 1
CONTROL 2
CONTROL 3

En: Control
De: Kontrolle
Es: Control
Fr: Contrôle
It: Controllo
Pt: Controlo

CONTROL +

En: Positive Control
De: Positivkontrolle
Es: Control Positivo
Fr: Contrôle positif
It: Controllo positivo
Pt: Controlo Positivo

CONTROL + L

En: Low Positive Control
De: Schwachpositiv-kontrolle
Es: Control Positivo bajo
Fr: Contrôle positif faible
It: Controllo Positivo Basso
Pt: Controlo Positivo Baixo

CONTROL –

En: Negative Control
De: Negativkontrolle
Es: Control Negativo
Fr: Contrôle négatif
It: Controllo negativo
Pt: Controlo Negativo

CONTROL AB

En: Control Antibody
De: Kontroll-Antikörper
Es: Anticuerpo Control
Fr: Anticorps du contrôle
It: Anticorpo di Controllo
Pt: Anticorpo do Controlo

PRE A

PRE B

En: Pretreatment Solution
De: Vorbehandlungs-lösung
Es: Solución de Pretratamiento
Fr: Solution de prétraitement
It: Soluzione di pretrattamento
Pt: Solução de Pré-tratamento

DITHIOTHREITOL

En: Dithiothreitol Solution
De: Dithiothreitol-Lösung
Es: Solución de Ditiotreitol
Fr: Solution de Dithiothreitol
It: Soluzione di Ditiotreitolo
Pt: Solução de Ditiotreitol

BORATE-KCN BUF

En: Borate-KCN Buffer Solution
De: Borat-KCN-Puffer
Es: Solución Tampón Borato-KCN
Fr: Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium
It: Soluzione Tampone Borato-KCN
Pt: Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

GI-MA

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 GI-MA

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the quantitative measurement of CA19-9 in serum, as an aid in patient management.

Catalog Number: **L2KGI2** (200 tests)
Test Code: **GIM** Color: **Dark Pink**

> CA19-9 antigen levels in a given specimen determined with assays from different manufacturers can vary due to differences in assay methods and reagent specificity. Results reported by the laboratory to the physician must include the identity of the assay used to measure CA19-9 antigen levels. Values obtained with different assays cannot be used interchangeably. Before changing assays, the laboratory must confirm baseline values for patients being serially monitored.

Summary and Explanation

The GI-MA monoclonal antibody reacts specifically with the sialylated Lewis[a] blood group antigen (CA19-9). The antigen is expressed as a monosialoganglioside on secreted mucus glycoproteins in colorectal and pancreatic tumors. It can also be detected on mucin in patients' sera.[1] Sources include normal pancreas; bile duct; and gastric, colic, endometric and salivary epithelia. In healthy individuals, the CA19-9 antigen circulates at low levels, normally about 37 U/mL.[16] Elevated levels have been seen in benign inflammatory diseases of the hepatobiliary tract.[2] Studies have also shown that mucin bearing this antigen was more frequently detected in the sera of patients with pancreatic cancer than any other gastrointestinal carcinoma, including colorectal.[3] It is also found in bile duct, ovarian mucinous cystadenocarcinomas and uterine adenocarcinomas.

Pancreatic cancer in the nonjaundiced patient can be difficult to diagnose, even with the aid of modern scanning techniques. The detection and quantification of mucin can be used in the serological diagnosis of the disease.

The use of assays for detecting the CA19-9 antigen in pancreatic cancer is well documented, with 68–94% sensitivity and 76–100% specificity being reported using approximately 37 U/mL as a cutoff.[3-13] It has been found in 18% of colon cancer patients and 67% of hepatobiliary cancer patients.[3] The CA19-9 antigen has also been found in the sera of cystic fibrosis patients,[15] and has been used in the serological diagnosis of the disease. Although useful as an adjunct in cancer diagnosis, it should not be considered a screening or diagnostic test when used alone.

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 GI-MA 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 GI-MA has not been tested with all possible variations of tube types.

Volume Required: 50 µL serum

Storage: 1 day at 2–8°C, or 2 months at –20°C.[16]

Warnings and Precautions

For *in vitro* use only.

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.

H412 **P273, P501**	Harmful to aquatic life with long lasting effects. Avoid release to the environment. Dispose of contents and container in accordance with all local, regional, and national regulations. **Contains:** sodium azide; GI-MA Adjustors

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.

GI-MA Bead Pack (L2GI12)
With barcode. 200 beads, coated with murine monoclonal anti-CA19-9 antibody. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KGI2: 1 pack

GI-MA Reagent Wedge (L2GIA2)
With barcode. 11.5 mL protein-based buffer. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to murine monoclonal anti-CA19-9 antibody in buffer, with preservative. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KGI2: 1 wedge

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.

GI-MA Adjustors (LGIL, LGIH)
Two vials (Low and High) of CA19-9 in a lyophilized nonhuman serum matrix, with preservative. Reconstitute each vial with **4.0 mL** distilled or deionized water. Let stand for 30 minutes, then mix by *gentle* swirling or inversion. Stable at 2–8°C for 30 days, after reconstitution, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KGI2: 1 set

Before making an adjustment, place the appropriate Aliquot Labels (supplied with the kit) on test tubes so that the barcodes can be read by the on-board reader.

Kit Components Supplied Separately

Multi-Diluent 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
For the on-board dilution of patient samples. One vial, concentrated (ready-to-use), nonhuman protein/buffer matrix, with preservative. Storage: 30 days (after opening) at 2–8°C or 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2M2Z: 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.
L2M2Z: 3 labels **L2M2Z4:** 5 labels

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate
L2PWSM: Probe Wash
L2KPM: Probe Cleaning Kit
LRXT: Reaction Tubes (disposable)
L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

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 Systems Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual for preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval: 2 weeks

Quality Control Samples: Follow government regulations or accreditation requirements for quality control frequency.

Use controls or serum pools with at least two levels (low and high) of CA19-9.

Siemens Healthcare Diagnostics recommends the use of commercially available quality control materials with at least 2 levels (low and high). A satisfactory level of performance is achieved when the analyte values obtained are within the Acceptable Control Range for the system, or within an established range determined by an appropriate internal laboratory quality control scheme.

Expected Values

Based on its relationship to IMMULITE GI-MA (see Method Comparison), the assay can be expected to have essentially the same reference ranges.

In a preliminary study, serum samples from 70 adults, both males and females, in apparent good health were processed by the IMMULITE GI-MA assay. The results ranged from nondetectable to 33 U/mL (absolute upper value reported), with a median of 5.1 U/mL.

Additionally, a reference range study for IMMULITE GI-MA was performed using serum samples from adult volunteers, including both men and nonpregnant women ranging from approximately 20 to 70 years of age (central 95%: 22–64 years, median: 40 years). The subjects were in apparent good health, based on a questionnaire.

Blood samples were collected in France, Germany, the Netherlands and Portugal. Results were generated by an independent laboratory in the Netherlands using IMMULITE kits. (The samples were collected in plain glass tubes without anticoagulants, gel barriers, or clot-promoting additives, and assayed in singlicate.)

Medians and 95th percentiles for relevant subgroups are tabulated below. Percentiles were determined nonparametrically.

Group	Median	95%ile	Units	*n*
Males	3.0	18.3	U/mL	428
Females	4.2	18.7	U/mL	370
Combined	3.5	18.4	U/mL	798

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

Limitations

CA19-9 is not expressed in about 3–7% of the population, both in healthy and ill subjects, who belong to the rare blood group of Lewis.[a–/b–]

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 U/mL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Calibration Range: Up to 1000 U/mL

The assay is traceable to an internal standard manufactured using qualified materials and measurement procedures.

Analytical Sensitivity: 1.0 U/mL

High-Dose Hook Effect: None up to 50,000 U/mL

Precision: Samples were processed in duplicate over the course of 20 days, two runs per day, for a total of 40 runs and 80 replicates. (See "Precision" table.)

Linearity: Samples were assayed under various dilutions. (See "Linearity" table for representative data.)

Recovery: Samples spiked 1 to 19 with three CA19-9 solutions (400, 1000 and 2000 U/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody is highly specific for CA19-9. (See "Specificity" table.)

Anticoagulants: No significant effect.

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.

Biotin: Specimens that contain biotin at a concentration of 1500 ng/mL demonstrate a less than or equal to 10% change in results. Biotin concentrations greater than this may lead to incorrect results for patient samples.

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 3000 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Method Comparison: The assay was compared to IMMULITE GI-MA on 92 samples. (Concentration range: nondetectable to approximately 1000 U/mL. See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 1.09 (IML) – 0.43 U/mL
r = 0.998

Means:
102 U/mL (IMMULITE 2000)
93.2 U/mL (IMMULITE)

References

1) Magnani JL, Steplewski Z, Koprowski H, Ginsburg V. Identification of the gastrointestinal and pancreatic cancer-associated antigen detected by monoclonal antibody 19-9 in the sera of patients as a mucin. Cancer Res 1983;43:5489-92. 2) Frebourg T, Bercoff E, Manchon N, et al. The evaluation of CA19-9 antigen level in the early detection of pancreatic cancer. Cancer 1988;62:2287. 3) Herlyn M, Sears HF, Steplewski Z, Koprowski H. Monoclonal antibody detection of a circulating tumor-associated antigen. 1. Presence of antigen in the sera of patients with colorectal, gastric and pancreatic carcinoma. J Clin Immunol 1982;2:135-40. 4) Cooper EH, Forbes MA, Taylor M. An evaluation of DUPAN-2 in pancreatic cancer and gastrointestinal disease. Br J Cancer 1990;62:1004-5. 5) Rhodes JM, Ching C-K. Serum diagnostic tests for pancreatic cancer. In: Neoptolemos J, editor. Bailliere's clinical gastroenterology. London: Bailliere Tindall, 1990: 833-52. 6) Steinberg W. The clinical utility of the CA19-9 tumor-associated antigen. Am J Gastroenterol 1990;85:350-5. 7) Molina LM, Diez M, Cava MT, Maestro ML, Ortega MD, Mendiz JG, et al. Tumor markers in pancreatic cancer: a comparative clinical study between CEA, CA19-9 and CA50. Int J Biol Markers 1990;5:127-32. 8) Ferrara C, Basso D, Fabris C, Malesci A, Fogar P, Megiato T, et al. Comparison of two newly identified tumor markers (CAR-3 and DUPAN-2) with CA19-9 in patients with pancreatic cancer. Tumori 1991;77:56-60. 9) Kawa S, Kato M, Oguchi H, Kobayashi T, Furuta S, Kanai M. Elevated serum levels of Dupan-2 in pancreatic cancer patients negative for Lewis blood group phenotype. Br J Cancer 1991;64:899-902. 10) Kobayashi T, Kawa S, Tokoo M, Oguchi H, Kiyosawa K, Furata S, et al. Comparative study of CA-50 (time-resolved fluoroimmunoassay), Span-1, and CA19-9 in the diagnosis of pancreatic cancer. Scand J Gastroenterol 1991;26:787-97. 11) Lucarotti ME, Habib NA, Kelly SB, Rothnie ND, Nelson O, Lindholm L, et al. Clinical evaluation of combined use of CEA, CA19-9 and CA50 in the serum of patients with pancreatic carcinoma. Eur J Surg Oncol 1991;17:51-3. 12) Masson P, Palsson B, Andren-Sandberg A. Evaluation of CEA, CA19-9, CA-50, CA-195 and TATI with special reference to pancreatic disorders. Int J Pancreatol 1991;8:333-44. 13) Motoo Y, Kawakami H, Watanabe H, Satomura Y, Ohta H, Okai T, et al. Serum sialyl-Tn antigen levels in patients with digestive cancers. Oncology 1991;48:321-6. 14) Niederau C, Grendell JH. Diagnosis of pancreatic carcinoma. Imaging techniques and tumor markers. Pancreas 1992;7:66-86. 15) Roberts DD, Rose MC, Wang WT, et al. Isolation and characterization of mucin from the serum of cystic fibrosis patients. Am J Respir Cell Mol Biol 1990;2:373. 16) Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz textbook of clinical chemistry. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994: 920.

Technical Assistance

Available outside the United States only. For technical assistance, contact your National Distributor.

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

Intraassay Precision (U/mL)

	Mean[1]	SD[2]	CV[3]
1	7	0.6	9.2%
2	30	2.5	8.2%
3	384	25.1	6.5%
4	616	46.5	7.6%

Interassay Precision (U/mL)

	Mean[1]	SD[2]	CV[3]
1	7	0.7	10.0%
2	30	2.9	9.4%
3	384	26.3	6.8%
4	616	50.8	8.3%

Linearity (U/mL)

	Dilution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	8 in 8[5]	21	—	—
	4 in 8	10	11	91%
	2 in 8	4.7	5.3	89%
	1 in 8	1.8	2.6	69%
2	8 in 8	20	—	—
	4 in 8	9.1	10	91%
	2 in 8	4.3	5.0	86%
	1 in 8	1.8	2.5	72%
3	8 in 8	52	—	—
	4 in 8	27	26	104%
	2 in 8	12	13	92%
	1 in 8	5.6	6.5	86%
4	8 in 8	64	—	—
	4 in 8	29	32	91%
	2 in 8	14	16	88%
	1 in 8	6.1	8.0	76%
5	8 in 8	129	—	—
	4 in 8	59	65	91%
	2 in 8	28	32	88%
	1 in 8	13	16	81%
6	8 in 8	240	—	—
	4 in 8	110	120	92%
	2 in 8	51	60	85%
	1 in 8	28	30	93%

Specificity

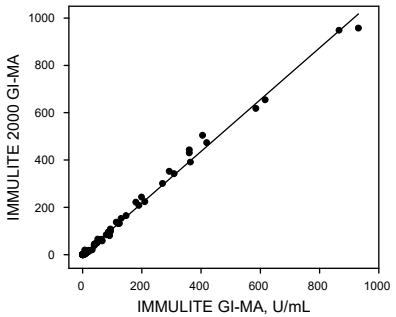
Compound[1]	Amount Added[2]	% Cross reactivity[3]
CA125	1000 U/mL	ND[4]
CA15-3	720 U/mL	ND
CEA	1000 ng/mL	ND

ND: Not detectable[4]

Recovery (U/mL)

	Solution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	—	19	—	—
	A	41	38	108%
	B	65	68	96%
	C	115	118	97%
2	—	53		
	A	72	70	103%
	B	96	100	96%
	C	153	150	102%
3	—	56		
	A	78	73	107%
	B	105	103	102%
	C	149	153	97%
4	—	119		
	A	137	133	103%
	B	169	163	104%
	C	225	213	106%
5	—	221		
	A	231	230	100%
	B	267	260	103%
	C	308	310	99%

Method Comparison



(IML 2000) = 1.09 (IML) – 0.43 U/mL
r = 0.998

Deutsch. **Intraassay Precision**: [1]Mittelwert, [2]SD (Standardabweichung), [3]CV (Variationskoeffizient). **Interassay Precision**: [1]Mittelwert, [2]SD (Standardabweichung), [3]CV (Variationskoeffizient). **Linearity**: [1]Verdünnung, [2]Beobachtet (B), [3]Erwartet (E), [4]% B/E, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Probe, [2]Beobachtet (B), [3]Erwartet (E), [4]% B/E. **Specificity**: [1]Verbindung, [2]zugesetzte Menge, [3]% Kreuzreaktivität, [4]NN: Nicht nachweisbar. **Method Comparison**: GI-MA: GI-MA.

Español. **Intraassay Precision:** [1]Media, [2]DS, [3]CV. **Interassay Precision:** [1]Media, [2]DS, [3]CV. **Linearity**: [1]Dilución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 en 8. **Recovery**: [1]Solución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Specificity**: [1]Compuesto, [2]Cantidad añadida, [3]% Reacción cruzada, [4]ND: no detectable. **Method Comparison**: GI-MA: GI-MA.

Français. **Intrraassay Precision**: [1]Moyenne, [2]SD, [3]CV. **Interassay Precision**: [1]Moyenne, [2]SD, [3]CV. **Linearity**: [1]Dilution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A, [5]8 dans 8. **Recovery**: [1]Solution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A. **Specificity**: [1]Composé, [2]ajouté, [3]Réaction croisée%. [4]ND: non détectable. **Method Comparison**: GI-MA: GI-MA.

Italiano. **intraassay Precision**: [1]Media, [2]SD (Deviazione Standard), [3]CV (Coefficiente di Variazione). **Interassay Precision**: [1]Media, [2]SD (Deviazione Standard), [3]CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity**: [1]Diluizione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Soluzione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A. **Specificity**: [1]Composto, [2]quantità aggiunta, [3]Percentuale di Crossreattività, [4]ND: non determinabile. **Method Comparison**: GI-MA: GI-MA.

Português. **Intraassay Precision**: [1]Média, [2]Desvio padrão, [3]Coeficiente de variação. **Interassay Precision**: [1]Média, [2]Desvio padrão, [3]Coeficiente de variação. **Linearity**: [1]Diluição, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 em 8. **Recovery**: [1]Solução, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Specificity**: [1]Composto, [2]Quantidade adicionada, [3]Percentagem de reacção cruzada, [4]ND: não detectável. **Method Comparison**: GI-MA: GI-MA.

Deutsch

GI-MA IMMULITE 2000

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme — zur quantitativen Messung von CA19-9 in Serum, als Hilfestellung in der Therapie- und Verlaufskontrolle.

Artikelnummern: **L2KGI2** (200 Tests)
Testcode: **GIM** Farbe: **dunkelrosa**

Unterschiede in der jeweiligen Methodik oder der Spezifität der Reagenzien können dazu führen, das die mit Testsystemen von verschiedenen Herstellern ermittelten Konzentrationen an CA19-9 für dieselben Proben nicht einheitlich sind. In den vom Labor an den Arzt gemeldeten Ergebnissen muss das zur Messung der CA19-9 Konzentration verwendete Testsystem ausgewiesen werden. Die mit verschiedenen Testsystemen erzielten Werte sind nicht austauschbar. Vor dem Umstieg auf ein anderes Testsystem müssen die Basiswerte für die seriell überwachten Patienten vom Labor verifiziert werden.

Klinische Relevanz

Der im Test verwendete monoklonale Antikörper für GI-MA reagiert spezifisch mit dem sialylierten Lewis[a] Blutgruppenantigen (CA19-9). Das Antigen wird bei Kolorektal- und Pankreastumoren als Monosialogangliosid auf sezernierten Schleimglykoproteinen exprimiert. Ebenso kann es im Patientenserum[1] nachgewiesen werden. Es wird auch durch die Epithelien des gesunden Pankreas, der Gallengänge, des Magens, des Darmes, des Endometriums und der Speicheldrüsen gebildet. In Gesunden treten nur niedrige CA19-9- Spiegel auf – etwa bis 37 U/ml.[16] Erhöhte Spiegel werden bei gutartigen entzündlichen Erkrankungen von Galle und Leber auf.[2] In Studien wurde gezeigt, dass dieses Muzinantigen häufiger im Serum von Patienten mit Pankreastumor auftritt, als bei anderen Gastrointestinaltumoren (einschließlich dem Kolorektalkarzinom).[3] Es wird ebenso in den Gallengängen und durch Zystadenokarzinome von Gebärmutter und Ovar gebildet.

Bei nicht- ikterischen Patienten ist das Pankreaskarzinom trotz hochauflösender bildgebender Verfahren meist schlecht zu diagnostizieren. Der Nachweis des Muzins CA19-9 sollte daher als serologischer Parameter Diagnostik ergänzen.

Seine Anwendung ist in der Literatur gut dokumentiert. Bei der Verwendung von 37 U/ml als Entscheidungsgrenze werden Sensitivitäten von 68–94 % bei gleichzeitigen Spezifitäten von 76–100 % berichtet.[3-13] CA19-9 wurde bei 18% aller Patienten mit Dickdarmkrebs und bei 67 % der Patienten mit Karzinomen[3] des Hepatobiliären Traktes. Es wurde ebenfalls bei Patienten mit Zystischer Fibrose[15] nachgewiesen und in der serologischen Diagnostik verwendet. CA19-9 ist als Einzelparameter nicht zur Diagnose oder zum Screening zu verwenden.

Methodik

Der IMMULITE 2000 GI-MA 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 zurückhaltend zu interpretieren.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter 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 GI-MA sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden.

Erforderliche Menge: 50 µl Serum

Lagerung: 1 Tag bei 2–8°C oder 2 Monate bei –20°C.[16]

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *in vitro*-Diagnostik.

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.

H412	Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.
P273, P501	Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Inhalt und Behälter sind in Übereinstimmung mit den gesetzlichen Bestimmungen zu entsorgen. **Enthält:** Natriumazid; GI-MA-Kalibratoren

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.

GI-MA Kugel-Container (L2GI12)
Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit anti-CA19-9 Antikörpern (monoklonal, Maus). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KGI2: 1 Container

GI-MA- Reagenzbehälter (L2GIA2)
Mit Barcode. 11,5 ml Puffer-Matrix sowie; 11,5 ml alkalische Phophatase (Kalb). Konjugiert mit monoklonal anti-CA19-9 Antikörpern (Maus) in Pufferlösung, (mit Konservierungsmittel). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KGI2: 1 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.

GI-MA-Kalibratoren (LGIL, LGIH)
Zwei Fläschchen (Low und High) mit lyophilisiertem CA19-9 in nicht humaner Serum-Matrix, mit Konservierungsmittel. Fläschchen mit je **4,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. 30 Minuten stehen lassen, dann zum Mischen *leicht* schwenken oder umdrehen. Nach Rekonstituierung 30 Tage bei 2–8°C, sonst 6 Monate (aliquotiert) bei –20°C haltbar.
L2KGI2: 1 Set

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Röhrchen kleben, so dass die Barcodes vom Barcodereader des Systems gelesen werden können.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

Multidiluent 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Zur on-board Verdünnung von Patientproben. Enthält nichthumane Protein/ Puffer-Matrix, versetzt mit Konservierungsmittel. Lagerung: 30 Tage (nach Öffnen) bei 2–8°C oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2M2Z: 25 ml **L2M2Z4:** 55 ml

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2M2Z: 3 Etiketten **L2M2Z4:** 5 Etiketten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße
L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm) für die Probenverdünnung
L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Teströhrchen; Kontrollen

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Verdünnung, Kalibration, Test- und Qualitätskontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
2 Wochen

Qualitätskontrollseren: Jeweils gültige gesetzlichen Bestimmungen oder Akkreditierungsanforderungen sind bei der Festlegung der Intervalle zur Durchführung der Qualitätskontrollen zu berücksichtigen.

Kontrollen oder Seren mit CA19-9 in zumindest zwei Konzentrationen (niedrige und hohe) verwenden.

Siemens Healthcare Diagnostics empfiehlt die Verwendung von kommerziell verfügbaren Qualitätskontrollen in mindestens 2 Konzentrationen (niedrig und hoch). Der Systembetrieb gilt dann als zufriedenstellend, wenn die Analytwerte innerhalb des für das System zulässigen Kontrollbereichs oder des für die laborinternen Qualitätskontrollverfahren festgelegten zulässigen Bereichs liegen.

Referenzwerte

Aufgrund der guten Korrelation zum IMMULITE-GI-MA-Testsystem (siehe „Methodenvergleich") ist zu erwarten, dass dieselben Referenzwerte gefunden werden.

In einer vorläufigen Studie wurden Seren von 70 erwachsenen Männern und Frauen in offensichtlich gesundem Zustand mit dem IMMULITE GI-MA Assay gemessen. Die Ergebnisse reichen von „nicht nachweisbar" bis zu 33 U/ml (höchster gemessener Absolutwert) mit einem Median von 5,1 U/ml.

Zusätzlich wurde mit IMMULITE GI-MA eine Studie mit Seren von erwachsenen männlichen und nicht-schwangeren weiblichen Probanden durchgeführt. Das Alter der Probanden reichte von 20 bis 70 Jahren (95 % Vertrauensbereich: 22–64 Jahre, Median: 40 Jahre). Aufgrund einer Befragung wurden alle Probanden als „in gutem gesundheitlichem Zustand" bewertet.

Die Blutproben wurden in Frankreich, Deutschland, den Niederlanden und Portugal gesammelt. Die Werte wurden in einem unabhängigen Labor in den Niederlanden mit IMMULITE Assays ermittelt. (Die Probenentnahme erfolgte in unbeschichtete Glasröhrchen ohne Zusätze von Antikoagulantien, Trenngel, oder gerinnungsfördernden Substanzen. Es wurden Einzelbestimmungen durchgeführt.)

Die nachfolgende Tabelle zeigt die Mediane und 95%ile für die jeweiligen Untergruppen. Die Perzentilen wurden nonparametrisch ermittelt.

Gruppe	Median	95%ile	Einheiten	*n*
Männer	3,0	18,3	U/ml	428
Frauen	4,2	18,7	U/ml	370
Gesamt	3,5	18,4	U/ml	798

Diese Grenzwerte sind lediglich als *Richtlinien* aufzufassen. Jedes Labor sollte seine eigenen Referenzbereiche etablieren.

Grenzen der Methode

CA19-9 wird bei etwa 3 bis 7 Prozent der Bevölkerung nicht exprimiert. Gesunde und erkrankte Personen, mit der seltenen Blutgruppe Lewis$^{a-/b-}$ sind, auch bei auftretendem Tumor, nicht in der Lage das modifizierte Hapten des menschlichen Lewis Blutgruppensystems zu synthetisieren.

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 U/ml ausgedrückt. (Alle Daten wurden — sofern nicht anders angegeben — aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Messbereich: Bis 1000 U/ml

Die Methode ist rückführbar auf einen internen Standard, der mittels qualifizierter Materialien und Messmethoden hergestellt wurde.

Analytische Sensitivität: 1,0 U/ml

High-Dose-Hook-Effekt:
Keiner bis zu 50 000 U/ml

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Testansätzen in Doppelbestimmung gemessen (insgesamt 40 Ansätze und 80 Replikate. (Siehe Tabelle „Präzision“.)

Linearität: Proben wurden in verschiedenen Verdünnungen getestet. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Linearität”.)

Wiederfindung: Proben wurden mit drei CA19-9-Lösungen (400, 1000 und 2000 U/ml) im Verhältnis von 1:19 versetzt. (Siehe Tabelle „*Recovery”* für representative Daten.)

Spezifität: Hochspezifischer GI-MA Antikörper. (Siehe Tabelle „Spezifität”.)

Antikoagulanzien: Kein signifikanter Effekt

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.

Biotin: Proben, die Biotin in einer Konzentration von 1500 ng/ml enthalten, zeigen eine Veränderung der Ergebnisse von kleiner oder gleich 10 %. Größere Biotin-Konzentrationen als diese können zu falschen Ergebnissen bei Patientenproben führen.

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 3000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Methodenvergleich: Der Assay wurde unter Verwendung von 92 Patientenproben mit dem IMMULITE GI-MA verglichen. (Konzentrationsbereich ca. nicht nachweisbar bis zu 1000 U/ml. Siehe Grafik.) Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 1,09 (IML) – 0,43 U/ml
r = 0,998

Mittelwert:
102 U/ml (IMMULITE 2000)
93,2 U/ml (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

GI-MA

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro* usado con los analizadores IMMULITE 2000 — para la medición cuantitativa de CA19-9 en suero, como ayuda en el seguimiento del paciente.

Números de Catálogo: **L2KGI2** (200 tests)
Código del Test: **GIM** Color: **Rosa oscuro**

La concentración de CA19-9 en una muestra dada, determinada mediante ensayos de distintos fabricantes, puede variar debido a diferencias en los métodos de ensayo y la especificidad del reactivo. Los resultados comunicados al médico por el laboratorio deben incluir la identidad del ensayo usado. Los valores obtenidos con distintos ensayos de CA19-9 no pueden intercambiarse. Antes de cambiar de ensayo, el laboratorio debe confirmar los valores de base para los pacientes que están siendo controlados en serie.

Resumen y Explicación del Test

El anticuerpo monoclonal GI-MA reacciona específicamente con el antígeno sializado del grupo sanguíneo Lewis[a] (CA19-9). El antígeno se expresa como un monosialoganglósido en glucoproteínas del mucus secretado en tumores colorrectales y pancreáticos. También se puede detectar en mucina en sueros de pacientes[1]. Entre las fuentes se incluyen el páncreas normal, el conducto biliar y los epitelios gástricos, cólico, endométrico y salival. En individuos sanos, el antígeno CA19-9 circula a bajos niveles, normalmente de alrededor de 37 U/ml[16]. Se han observado niveles elevados en enfermedades inflamatorias benignas del tracto hepatobiliar[2]. Los estudios han mostrado también que la mucina portadora de este antígeno se detectaba más frecuentemente en el suero de pacientes con cáncer pancreático que cualquier otro carcinoma gastrointestinal, incluyendo el colorrectal[3]. También se encuentra en el conducto biliar, en cistoadenocarcinomas mucosos de ovario y en adenocarcinomas uterinos.

El cáncer pancreático puede ser difícil de diagnosticar en pacientes que no presentan ictericia, incluso con las modernas técnicas de detección. La detección y cuantificación de mucina puede utilizarse en el diagnóstico serológico de la enfermedad.

El uso de ensayos para la detección del antígeno CA19-9 en cáncer pancreático está bien documentado, con una sensibilidad del 68 al 94% y una especificidad del 76 al 100%, observadas al usar aproximadamente 37 U/ml como valor de corte[3–13]. Se ha encontrado en el 18% de los pacientes con cáncer de colon y en el 67% de los pacientes con cáncer hepatobiliar[3]. El antígeno CA19-9 se ha encontrado también en suero de pacientes con fibrosis quística[15], y se ha utilizado en el diagnóstico serológico de la enfermedad. Aunque resulta útil como ayuda en el diagnóstico del cáncer, no debería considerarse como una prueba de diagnóstico precoz o análisis diagnóstico cuando se utiliza por sí sola.

Principio del análisis

IMMULITE 2000 GI-MA es un ensayo secuencial inmunométrico con dos sitios de unión quimioluminiscente en fase sólida.

Ciclos de incubación: 2 × 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 centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El GI-MA IMMULITE 2000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos.

Volumen requerido: 50 µl suero

Conservación: 1 día a 2–8°C, o 2 meses a –20°C[16].

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.

H412	Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.
P273, P501	Evitar su liberación al medio ambiente. Eliminar el contenido y el recipiente de acuerdo con las normativas locales, regionales y nacionales. **Contiene:** azida de sodio; Ajustadores de GI-MA

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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, 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: Use 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 GI-MA (L2GI12)
Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpo monoclonal anti-CA19-9 de ratón. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KGI2: 1 cartucho

Vial de reactivo de GI-MA (L2GIA2)
Con códigos de barras.11,5 ml de un tampón con proteína. 11,5 ml Fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con anticuerpo monoclonal murino anti-CA19-9 en solución tampón, con conservante. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KGI2: 1 vial

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 GI-MA (LGIL, LGIH)
Dos viales (bajo y alto) de CA19-9 liofilizada en una matriz no humana de suero, con conservante. Reconstituya cada vial con **4,0 ml** de agua destilada o desionizada. Deje reposar durante 30 minutos, mezcle por agitación o inversión suave. Estable a 2–8°C durante 30 días después de la reconstitución, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KGI2: 1 juego

Antes de hacer un ajuste, colocar las etiquetas a las alícuotas apropiadas (suministradas con el kit) sobre tubos de ensayo, de forma tal que los códigos de barras puedan ser leídos por el lector.

Componentes del kit que se suministran por separado

Multidiluyente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Para la dilución en el equipo de las muestras de pacientes. Un vial de un concentrado listo para su uso de una matriz proteica no humana con conservante. Conservación: 30 días (después de su apetura) a 2–8°C o 6 meses (alicuotado) a –20°C.
L2M2Z: 25 ml **L2M2Z4:** 55 ml

Se suministran etiquetas con códigos de barras para usarse con este diluyente. Antes de uso, colocar la etiqueta con el código de barras en un tubo de ensayo de 16 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2M2Z: 3 etiquetas **L2M2Z4:** 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 × 100 mm)
L2ZC: 250 Casquillos Del Tubo Del Diluyente De la Muestra

También necesarios
Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles

Ensayo

Aviso: para obtener un funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:
2 semanas

Muestras de Control de Calidad: Seguir las reglamentaciones gubernamentales o los requisitos de acreditación para conocer la frecuencia de control de calidad.

Utilizar controles o pooles de sueros con al menos dos niveles diferentes de CA19-9 (bajo y alto).

Siemens Healthcare Diagnostics recomienda el uso de materiales de control de calidad comercializados con al menos 2 niveles (bajo y alto). Un nivel de funcionamiento satisfactorio se consigue cuando los valores obtenidos del analito están dentro del rango de control aceptable para el sistema, o dentro del rango establecido determinado por un programa adecuado de control de calidad interno de laboratorio.

Valores Esperados

Basados en su relación, IMMULITE GI-MA (vea Método de Comparación), se espera que el ensayo tenga en términos generales los mismos intervalos de referencia.

En un estudio preliminar, se procesaron muestras de suero de 70 adultos, tanto hombres como mujeres con salud aparentemente buena, con el ensayo IMMULITE GI-MA. Los resultados oscilaron entre indetectable hasta 33 U/ml (valor superior absoluto), con una mediana de 5,1 U/ml.

Adicionalmente, se ha realizado un estudio para establecer un intervalo de referencia para IMMULITE GI-MA utilizando muestras de suero de voluntarios adultos, incluyendo hombres y mujeres no gestantes comprendidos entre los 20 y los 70 años de edad (central 95%: 22–64 años, mediana: 40 años). Los sujetos estaban en aparente buen estado de salud, en base al cuestionario que cumplimentaron.

Las muestras fueron recogidas en Francia, Alemania, Holanda y Portugal. Los resultados fueron obtenidos en un laboratorio independiente en Holanda, utilizando kits IMMULITE. (Las muestras fueron recogidas en tubos de vidrio sin anticoagulantes, geles o activadores de la coagulación, y procesados por sencillo.)

Las medianas y los percentiles 95 para los subgrupos relevantes se muestran en la siguiente tabla. Los percentiles se calcularon de forma no paramétrica.

Grupo	Mediana	95%ile	Units	*n*
Hombres	3,0	18,3	U/ml	428
Mujeres	4,2	18,7	U/ml	370
Combinado	3,5	18,4	U/ml	798

Estos límites han de considerarse sólo como una *guía*. Cada Laboratorio deberá establecer sus propios rangos de referencia.

Limitaciones

CA19-9 no se expresa en alrededor del 3 al 7% de la población, tanto en sujetos sanos como enfermos, que pertenecen al escaso grupo sanguíneo de Lewis.[a–/b–]

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis *in vitro*. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos

séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasione un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia, no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

Características Analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo ver las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en U/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.)

Rango de Calibración: hasta 1000 U/ml

El ensayo es trazable a un estándar interno fabricado usando procedimientos de medida y materiales cualificados.

Sensibilidad: 1,0 U/ml

Efecto de gancho a altas dosis: Ninguno hasta 50 000 U/ml

Precisión: Las muestras se analizaron por duplicado durante 20 días, dos veces al día, con un total de 40 veces y 80 réplicas. (Véase la tabla “Precision”.)

Linealidad: las muestras fueron analizadas con varias diluciones. (Véase la tabla “Linealidad” para resultados representativos.)

Recuperación: Se analizaron muestras sobrecargadas 1 en 19 con tres soluciones de CA19-9 (400, 1000 y 2000 U/ml). (Ver la tabla de “Recovery” para resultados representativos.)

Especificidad: Los anticuerpos son altamente específicos para CA19-9. (Ver la tabla de “Specificity”.)

Anticoagulantes: Sin efecto significativo

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.

Biotina: Las muestras que contienen biotina en una concentración de 1500 ng/ml han demostrado un cambio igual o inferior al 10% en los resultados. Una concentración de biotina superior a esta puede producir resultados incorrectos para las muestras del paciente.

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 3000 mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Comparación de los métodos:
El ensayo se ha comparado con el GI-MA IMMULITE en 92 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente indetectables a 1000 U/ml. Véase el gráfico.)
Por regresión lineal:

(IML 2000) = 1,09 (IML) –0,43 U/ml
r = 0,998

Medias:
102 U/ml (IMMULITE 2000)
93,2 U/ml (IMMULITE)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

IMMULITE 2000 GI-MA

Domaine d'utilisation : Dosage quantitatif de l'antigène CA19-9 dans le sérum. Réservé à un usage diagnostic *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000, ce test constitue une aide pour la prise en charge des patients.

Référence catalogue : **L2KGI2** (200 tests)
Code produit : **GIM**
Code couleur : **rose foncé**

Les concentrations en antigène CA19-9 d'un échantillon donné, déterminées à l'aide de dosages provenant de différents fabricants, peuvent varier du fait des méthodes utilisées et de la spécificité des réactifs. Les résultats transmis par le laboratoire aux médecins doivent mentionner la méthode utilisée pour doser le taux d'antigène CA19-9. Les valeurs obtenues à l'aide de différentes méthodes ne peuvent pas être utilisées indépendamment. Avant de changer de technique, le laboratoire doit confirmer les valeurs basales obtenues avec la technique précédente chez les patients suivis régulièrement.

Introduction

L'anticorps monoclonal GI-MA réagit spécifiquement avec l'antigène de groupe sanguin Lewis[a] sialylé CA19-9. L'antigène s'exprime dans les tumeurs colorectales et pancréatiques sous la forme d'un ganglioside monosialylé sur des glycoprotéines sécrétées dans le mucus. Il peut également être trouvé sur les mucines dans le sérum des patients.[1] Les différentes origines de l'antigène sont le pancréas non pathologique, le canal cholédoque et les épithéliums gastriques, coliques, endométriaux et des glandes salivaires. Chez le sujet en bonne santé, le taux d'antigène CA19-9 circulant est faible, habituellement aux environs de 37 U/ml.[16] Des taux élevés ont été constatés dans des maladies inflammatoires bénignes du tractus hépatobiliaire.[2] Des études ont aussi montré que la mucine porteuse de cet antigène est plus fréquemment détectée dans le sérum de patients atteints de cancer du pancréas que lors de tout autre carcinome gastro-intestinal, y compris colorectal.[3] On le retrouve aussi dans le canal cholédoque, les cystadénocarcinomes mucineux ovariens et les adénocarcinomes utérins.

Le cancer du pancréas chez le patient non ictérique peut être difficile à diagnostiquer, même avec les techniques modernes de recherche. La détection et la quantification de la mucine peuvent être utilisées pour le diagnostic sérologique de la maladie.

L'utilisation des dosages du CA19-9 dans le cancer du pancréas est bien documentée, avec une sensibilité de 68 à 94 % et une spécificité de 76 à 100 % pour un seuil fixé à 37 U/ml.[3-13] L'antigène CA19-9 a été trouvé chez 18 % des patients atteints de cancer du colon et 67 % des patients atteints de cancer hépatobiliaire.[3] Cet antigène est également retrouvé dans le sérum de patients atteints de fibrose kystique[15] et a été utilisé pour le diagnostic biologique de cette maladie. Toutefois, bien qu'utilisé comme test complémentaire pour le diagnostic de cancer, ce paramètre ne peut pas être utilisé seul comme test de dépistage ou de diagnostic.

Principe du test

Le test IMMULITE 2000 GI-MA est un dosage immunométrique séquentiel chimiluminescent 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 dûs 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 GI-MA IMMULITE 2000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles.

Volume nécessaire : 50 µl sérum

Conservation : 1 jour à 2–8°C ou 2 mois à –20°C.[16]

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

ATTENTION : Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.

H412	Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.
P273, P501	Éviter le rejet dans l'environnement. Éliminer les contenus et les contenants conformément à toutes les réglementations locales, régionales et nationales. **Contient :** azide de sodium ; Ajusteurs GI-MA

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 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 GI-MA (L2GI12)
Avec code-barres. 200 billes revêtues d'un anticorps monoclonal murin anti-CA19-9. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KGI2 : 1 cartouche

Cartouche à réactif GI-MA (L2GIA2)
Avec code-barre. 11,5 ml d'un tampon protéique. 11,5 ml de phosphatase alcaline (intestins de veau) conjuguée à un anticorps monoclonal murin dirigé contre l'antigène CA19-9 dans un tampon, avec conservateur. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KGI2 : 1 cartouche

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 GI-MA (LGIL, LGIH)
2 flacons de CA19-9 (« haut » et « bas ») dans une matrice lyophilisée de sérum non-humain, avec conservateur. Reconstituer chaque flacon avec **4,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Laisser reposer 30 minutes, puis mélanger en imprimant un *léger* mouvement circulaire ou en retournant *délicatement*. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après reconstitution ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KGI2 : 1 jeu

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondantes à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes en verre de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

Composants du coffret fournis séparément

Multi-diluant 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Pour la dilution à bord des échantillons de patients. Un flacon contenant une matrice concentrée (prête à l'emploi) de tampon/protéines non-humaines avec conservateur. Stockage: 30 jours (après ouverture) à 2–8°C ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2M2Z : 25 ml **L2M2Z4 :** 55 ml

Les étiquettes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 × 100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2M2Z : 3 étiquettes
L2M2Z4 : 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 × 100 mm)
L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

Egalement requis
Eau distillée ou désionisée ; tubes en verre ; contrôles

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000.

Voir le Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000 pour la préparation, le démarrage du système, la dilution, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé :
2 semaines

Echantillons pour le contrôle de qualité :
Suivre les réglementations gouvernementales et les exigences relatives aux accréditations en matière de fréquence de contrôle qualité.

Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) de CA19-9.

Siemens Healthcare Diagnostics recommande d'utiliser des échantillons de contrôle de qualité en vente dans le commerce et comprenant au moins 2 niveaux (bas et haut). Un niveau de performance satisfaisant est atteint lorsque les valeurs d'analyte obtenues se situent dans l'intervalle de contrôle acceptable du système ou dans un intervalle déterminé par un schéma de contrôle de qualité approprié interne au laboratoire.

Valeurs de référence

Compte tenu de sa corrélation avec le dosage IMMULITE GI-MA (voir « Comparaison de méthodes »), le dosage doit avoir pour l'essentiel les mêmes valeurs de référence.

Dans une étude préliminaire, des échantillons sériques de 70 adultes, hommes et femmes apparemment en bonne santé, ont été testés avec le dosage IMMULITE GI-MA. Les concentrations allaient de non détectable à 33 U/ml (valeur la plus élevée rapportée), avec une médiane à 5,1 U/ml.

En outre, une étude des valeurs de référence pour le dosage IMMULITE GI-MA a été menée avec des échantillons sériques de volontaires adultes, hommes et femmes non-enceintes, âgés de 20 à 70 ans (domaine centré à 95 % : 22 à–64 ans ; médiane : 40 ans). Les sujets étaient, d'après un questionnaire, apparemment en bonne santé.

Les échantillons sanguins ont été prélevés en France, Allemagne, Pays-Bas et Portugal. Les résultats ont été obtenus par un laboratoire indépendant des Pays-Bas en utilisant le coffret IMMULITE. (Les échantillons ont été prélevés sur tube en verre sans ni gel, ni activateur de coagulation et testés en simple.)

Les médianes et les 95ème percentiles des sous-groupes correspondants sont présentés dans le tableau ci-dessous. Les percentiles ont été déterminés de façon non-paramétrique.

Groupe	Médiane	95%ile	Units	*n*
Hommes	3,0	18,3	U/ml	428
Femmes	4,2	18,7	U/ml	370
Combiné	3,5	18,4	U/ml	798

Utiliser ces valeurs *à titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

Limites

Le CA19-9 n'est pas exprimé chez environ 3 à 7 % de la population, tant malade qu'en bonne santé, appartenant au groupe sanguin rare Lewis.[a-/b-]

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 rares sérums et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en U/ml. (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.)

Domaine de mesure : jusqu'à 1000 U/ml

Le dosage peut être retracé à un standard interne, manufacturé à l'aide de matériaux et procédures de mensuration qualifiées.

Sensibilité analytique : 1,0 U/ml

Effet-crochet : aucun jusqu'à 50 000 U/ml

Précision : Les échantillons ont été traités en double sur une période de 20 jours, à raison de deux séries par jour, pour un total de 40 séries et 80 réplicats. (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.)

Test de récupération : échantillons chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions de CA19-9 (400, 1000 et 2000 U/ml). (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : L'anticorps est hautement spécifique du CA19-9. (Voir le tableau « Specificity ».)

Anticoagulants : aucun effet significatif

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.

Biotine : Les échantillons contenant de la biotine à une concentration de 1500 ng/ml présentent un changement de résultats inférieur ou égal à 10 %. Des concentrations de biotine supérieures à cette valeur peuvent entraîner des résultats d'échantillons patients erronés.

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 ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 3000 mg/dl.

Comparaison de méthodes : Ce dosage a été comparé à la trousse IMMULITE GI-MA sur 92 échantillons. (Dont les concentrations allaient de indétectable à environ 1000 U/ml. Voir graphique.) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 1,09 (IML) – 0,43 U/ml
r = 0,998

Moyennes :
102 U/ml (IMMULITE 2000)
93,2 U/ml (IMMULITE)

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

Le Système Qualité de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. est certifié ISO 13485.

Italiano

GI-MA

Uso: Per prove *in vitro* con i Sistemi IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa del CA19-9 nel siero, quale ausilio nella gestione dei pazienti.

Codice: **L2KGI2** (200 test)
Codice del Test: **GIM** Colore: **Rosa scuro**

I livelli dell'antigene CA19-9 in un dato campione determinati secondo i dosaggi di produttori diversi possono variare a causa delle differenze nelle procedure utilizzate e nella specificità dei reagenti. I risultati comunicati dal laboratorio al medico devono includere l'identificazione del dosaggio utilizzato per rilevare i livelli dell'antigene CA19-9. I valori ottenuti con dosaggi diversi non sono interscambiabili. Prima di cambiare dosaggio, il laboratorio deve confermare i valori di base per i pazienti monitorati serialmente.

Riassunto e Spiegazione del Test

L'anticorpo monoclonale GI-MA reagisce in maniera specifica con l'antigene sialilato del gruppo sanguigno Lewis[a] (CA19-9). L'antigene è espresso come monosialoganglioside sulle glicoproteine mucose secrete in tumori colonrettali e pancreatici. Può anche essere individuato sulla mucina nel siero dei pazienti.[1] Le fonti includono il pancreas normale, il condotto biliare, e l'epitelio gastrico, colico, endometrico e salivare. In individui sani, l'antigene CA19-9 circola a bassi livelli, normalmente circa 37 U/mL.[16] Sono stati riscontrati livelli elevati in malattie infiammatorie benigne del tratto epatobiliare.[2] Studi hanno dimostrato che la mucina che porta questo antigene è stata individuata più frequentemente nel siero di pazienti con cancro pancreatico che in qualsiasi altro carcinoma gastrointestinale, incluso il carcinoma colonrettale.[3] E stata ritrovata anche nel condotto biliare, nei cistadenocarcinomi ovarici mucinosi e negli adenocarcinomi uterini.

Può essere difficile diagnosticare il cancro pancreatico in pazienti senza itterizia, anche con l'ausilio di tecniche moderne di lettura ottica. L'individuazione e la quantificazione della mucina possono essere utilizzate nella diagnosi sierologica della malattia.

L'uso di dosaggi per l'individuazione dell'antigene CA19-9 nel cancro pancreatico è ben documentato, con una sensibilità del 68–94% ed una specificità del 76–100%, utilizzando un cut-off di circa 37 U/mL.[3-13] Il CA 19-9 è stato trovato nel 18% dei pazienti con cancro del colon e nel 67% dei pazienti con cancro epatobiliare.[3] L'antigene CA19-9 è stato riscontrato anche nel siero di pazienti con fibrosi cistica,[15] ed è stato utilizzato nella diagnosi sierologica della malattia. Benchè sia utile come ausilio nella diagnosi del cancro, non deve essere considerato un test di screening o da utilizzarsi a scopi diagnostici se viene utilizzato da solo.

Principio del procedimento

Il dosaggio IMMULITE 2000 GI-MA è un dosaggio immunometrico sequenziale a due siti chemiluminescente in fase solida.

Cicli d'incubazione: 2 × 30 minuti

Raccolta del Campione

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

I campioni emolizzati posson 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 GI-MA non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette.

Volume Richiesto: 50 µL di siero

Conservazione: 1 giorno a 2–8°C o 2 mesi a –20°C.[16]

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale portatore e trasmettitore di agenti patogeni.

H412	Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.
P273, P501	Non disperdere nell'ambiente. Smaltire il prodotto e il contenitore in conformità con tutte le disposizioni locali, regionali e nazionali. **Contiene:** sodio azide; Calibratori GI-MA

Reagenti: Conservare i reagenti a 2–8°C. Eliminare in conformità alle leggi vigenti.

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati da sangue umano sono stati testati con esito negativo per la sifilide, gli anticorpi anti-HIV 1 e 2, l'Antigene di Superficie dell'Epatite B e 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 unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire il dosaggio.

Contenitore di Biglie GI-MA (L2GI12)
Con codice a barre. 200 biglie coattate con un anticorpo monoclonale murino anti-CA19-9. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KGI2: 1 confezione

Porta Reagente GI-MA (L2GIA2)
Con codice a barre. 11,5 mL di un tampone proteico. 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con un anticorpo monoclonale murino anti-CA19-9 in un tampone, con conservanti. Conservare nel frigorifero sigillato: stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KGI2: 1 porta reagente

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.

Calibratori GI-MA (LGIL, LGIH)
Due flaconi (Basso ed Alto), contenenti CA19-9 liofilo in una matrice di siero non umano, con conservanti. Ricostituire ogni flacone con **4,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Lasciare riposare per 30 minuti, quindi mescolare agitando *delicatamente* o capovolgendo la miscela. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo la ricostituzione, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KGI2: 1 set

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste sulle provette delle aliquote (fornite col kit) cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore.

Componenti del kit forniti separatamente

Multidiluente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Per la diluizione interna di campioni prelevati da pazienti. Un flacone di tampone proteico non umano concentrato (pronto all'uso) con conservante. Conservazione: 30 giorni (dopo l'apertura) a 2–8°C oppure 6 mesi (in aliquote) a –20°C.
L2M2Z: 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

Vengono Fornite Le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm cosicchè i codici a barre possano essere letti dal lettore interno
L2M2Z: 3 etichette
L2M2Z4: 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 × 100 mm) per Diluente del Campione
L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluente del Campione

Materiali richiesti
Acqua distillata o deionizzata; provette di vetro; controlli

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 2 settimane

Controllo di Qualità: Per la frequenza del controllo di qualità seguire le normative in vigore o i requisiti di accreditamento.

Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (alto e basso) di CA19-9.

Siemens Healthcare Diagnostics consiglia l'utilizzo di materiali di controllo della qualità disponibili in commercio con almeno 2 livelli (bassi e alti). Un livello soddisfacente di prestazioni si raggiunge quando i valori dell'analita ottenuti rientrano nei range di accettabilità del Controllo per il sistema o nei range stabiliti all'interno del laboratorio attraverso un programma appropriato di valutazione del controllo di qualità.

Valori Attesi

In base al suo rapporto con il dosaggio IMMULITE GI-MA (vedi Comparazione di Metodi), si può prevedere che il dosaggio abbia essenzialmente gli stessi range di riferimento.

In uno studio preliminare, sono stati analizzati con il dosaggio IMMULITE GI-MA campioni di siero di 70 pazienti adulti, uomini e donne, presumibilmente sani. I risultati variavano da livelli non rilevabili a 33 U/mL (valore superiore assoluto registrato), con una mediana di 5,1 U/mL.

Inoltre, è stato condotto uno studio per trovare il range di riferimento per l'IMMULITE GI-MA utilizzando siero di volontari adulti, inclusi uomini e donne non gravide di età compresa tra circa 20 e 70 anni (valore centrale 95%: 22–64 anni, valore mediano: 40 anni). I soggetti erano presumibilmente sani, in base ad un questionario.

I campioni di sangue sono stati prelevati in Francia, Germania, Olanda e Portogallo. I risultati sono stati generati da un laboratorio indipendente in Olanda utilizzando i kit IMMULITE. (I campioni sono stati prelevati in provette di vetro, senza anticoagulanti, barriere di gel, o additivi che favorissero la formazione di coaguli, ed analizzati in singolo.)

Di seguito sono state tabulate le medie ed il 95mo percentile per i sottogruppi rilevanti. I percentili sono stati determinati in maniera non parametrica.

Gruppo	Valore Mediano	95%ile	Unità	*n*
Uomini	3,0	18,3	U/mL	428
Donne	4,2	18,7	U/mL	370
Combinato	3,5	18,4	U/ml	798

Detti valori dovrebbero essere considerati solo come *suggerimento*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

Limiti

Il CA19-9 non è espresso in circa 3–7% della popolazione, in soggetti malati e sani, che appartengano al gruppo sanguigno Lewis.[a–/b–]

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 U/mL. (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 1000 U/mL

Il dosaggio è standardizzato verso uno standard interno preparato usato con materiali e secondo procedure di qualità.

Sensibilità Analitica: 1,0 U/mL

Effetto Gancio per Dosi Elevate: Nessuno fino a 50 000 U/mL

Precisione: I campioni sono stati elaborati in doppio in 20 giorni, due sedute al giorno, per un totale di 40 sedute e 80 replicati. (Vedi la tabella "Precision".)

Linearità: Sono stati dosati campioni in varie forme diluite. (Vedi la tabella "Linearity" per dati rappresentantivi.)

Recupero: Sono stati dosati campioni 1:19 ai quali sono state aggiunte tre soluzioni di CA19-9 (400, 1000 e 2000 U/mL). (Vedi la tabella "Recovery" per dati rappresentantivi.)

Specificità: Gli anticorpi sono molto specifici per il CA19-9. (Vedi la tabella "Specificity".)

Anticoagulanti: Nessun effetto significativo.

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.

Biotina: I campioni che contengono biotina a una concentrazione di 1500 ng/mL dimostrano una variazione nei risultati inferiore o pari al 10%. Le concentrazioni di biotina superiori a questo valore potrebbero portare a risultati non corretti dei campioni dei pazienti.

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 3000 mg/dL non ha nessun Effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Confronto di Metodi: Il dosaggio è stato comparato al dosaggio IMMULITE GI-MA su 92 campioni. (Range di concentrazione: da non rilevabile a circa 1000 U/mL. Vedi grafico.) Con regressione lineare:

(IML 2000) = 1,09 (IML) – 0,43 U/mL
r = 0,998

Valore medio*:*
102 U/mL (IMMULITE 2000)
93,2 U/mL (IMMULITE)

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore Nazionale.

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

GI-MA

Utilização: Para uso diagnóstico *in vitro* com os Analisadores dos Sistemas IMMULITE 2000 — para o doseamento quantitativo do CA19-9 no soro, como auxiliar no controlo do doente.

Números de catálogo:
L2KGI2 (200 testes)

Código do teste: **GIM** Cor: **Rosa escuro**

Os níveis de antigénios de CA19-9 numa determinada amostra com doseamento de diferentes fabricantes podem variar devido a diferenças nos métodos de doseamento e especificidade do reagente. Os resultados reportados pelo laboratório para o médico devem incluir a identificação do doseamento usado para medir os níveis do antigénios de CA19-9. Os valores obtidos com diferentes doseamentos não podem ser usados em permutação. Antes de mudar os doseamentos, o laboratório deve confirmar os valores basais para pacientes que estão a ser monitorizados.

Sumário e explicação do teste

O anticorpo monoclonal de GI-MA reage especificamente com o antigénio do grupo sanguíneo Lewis[a] sialilado (CA19-9). O antigénio é expresso como um monosialogangliosído em glicoproteínas mucosas secretadas em tumores pancreáticos e do cólon/recto. Podem também ser detectados em mucinas de soros de doentes[1]. Fontes incluem pâncreas normal; ducto biliar, e epitélios gástrico, cólico, ou endométrico e salivar. Em indivíduos saudáveis, o antigénio CA19-9 circula a baixos níveis normalmente abaixo de 37 U/mL[16]. Níveis elevados foram observados em doenças inflamatórias benignas do tracto hepatobiliar[2]. Estudos têm também demonstrado que a mucina que produz este antigénio foi detectada com maior frequência nos soros de doentes com cancro pancreático do que em outro carcinoma gastrointestinal, inclusivamente a neoplasia do cólon/recto[3]. São também encontradas no ducto biliar, cistadenocarcinomas mucinos ovárico e adenocarcinomas uterinos.

O cancro pancreático no doente sem icterícia pode ser difícil de diagnosticar, mesmo com o auxílio de técnicas modernas de digitalização. A detecção e quantificação da mucina pode ser usada no diagnóstico serológico da doença.

O uso de doseamentos para detectar o antígenio CA19-9 do cancro pancreático é bem documentado, com 68–94% de sensibilidade e 76–100% de especificidade sendo reportada usando aproximadamente 37 U/mL como limite[3–13]. Tem sido descoberto em 18% de doentes com cancro do cólon, e 67% de pacientes com cancro hepatobiliar[3]. O antígenio CA19-9 tem sido encontrado nos soros de pacientes com fibrose quiística[15] e tem sido usado no diagnóstico serológico da doença. Embora seja útil como auxiliar no diagnóstico do cancro, não deve ser considerado uma triagem ou teste de diagnóstico quando usado isoladamente.

Princípio do Procedimento

IMMULITE 2000 GI-MA é um solid-phase, assay immunometric chemiluminescent seqüencial do dois-local.

Ciclos de incubação: 2 × 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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes.
IMMULITE 2000 GI-MA não foram ainda testados com todas as possiveis variações originadas pelos tipos de tubos.

Volume de amostra: 50 µL de soro

Estabilidade: 1 dia a 2–8°C, ou 2 meses a –20°C[16].

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.

H412	Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.
P273, P501	Evitar a libertação para o ambiente. Eliminar o conteúdo e o recipiente em conformidade com todos os regulamentos locais, regionais e nacionais.
	Contém: azida de sódio; Ajustes GI-MA

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, dando 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: Use água destilada ou deionizada.

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 GI-MA (L2GI12)
Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com anticorpo monoclonal murino anti-CA19-9.
Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KGI2: 1 embalagem

Embalagem de Reagente de GI-MA (L2GIA2)
Com código de barras. 11,5 mL de um tampão baseado em proteína e 11,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugada a anticorpo monoclonal murino anti-CA19-9 tamponizada, com conservante. Armazene tapado e refrigerado: Estável até à data de validade a 2–8°C.
L2KGI2: 1 embalagem

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 GI-MA (LGIL, LGIH)
Dois frascos (nível alto e baixo) contendo CA19-9 liofilizado em matriz de soro não humano, com conservante. Reconstitua cada frasco com **4,0 mL** de água destilada ou desionizada. Deixe repousar por 30 minutos, e então misture por inversão ou movimentos *gentis*. Estável, após a reconstituição, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KGI2: 1 conjunto

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas da alíquota apropriadas (fornecidas com o "kit") em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Multidiluente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Para diluição no instrumento de amostras de pacientes. Um frasco, de concentrado (pronto a usar) constituido por uma matriz baseada em proteína não humana, com conservante, livre de CA 19-9.
Estabilidade: 30 dias (após abertura) a 2–8°C ou 6 meses (em alíquotas) a –20°C

L2M2Z: 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2M2Z: 3 etiquetas
L2M2Z4: 5 etiquetas

L2SUBM: Substrato quimioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Kit de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)
L2ZT: 250 Tubos de diluente da amostra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

Também necessário
Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos

Procedimento de doseamento

Ter em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000.

Consultar o Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000 relativamente aos procedimentos de preparação, diluição, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável:
2 semanas

Amostras de controlo de qualidade:
Observe os regulamentos governamentais ou os requisitos de acreditação quanto à frequência do controlo de qualidade.

Utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de CA19-9.

A Siemens Healthcare Diagnostics recomenda a utilização de materiais de controlo de qualidade comercialmente disponíveis com pelo menos 2 níveis (baixo e alto). É alcançado um nível de desempenho satisfatório quando os valores dos analitos obtidos estiverem dentro dos Limites de Controlo Aceitáveis para o sistema ou dentro dos limites estabelecidos e determinados pelo regime de controlo de qualidade laboratorial interno adequado.

Valores de Referência

Baseado no relacionamento com o Kit de GI-MA IMMULITE (veja Comparação de Métodos), pode-se esperar que os doseamentos tenham em geral as mesmas faixas de referência.

Num estudo preliminar, as amostras de soro de 70 adultos, homens e mulheres, aparentemente saudáveis, foram processadas pelo doseamento IMMULITE GI-MA. Os resultados variaram de; não detectável a 33 U/mL (valor superior absoluto reportado), com uma mediana de 5,1 U/mL.

Além disso, um estudo de referência para IMMULITE GI-MA foi realizado usando-se amostras de soro de adultos voluntários, incluindo homens e mulheres não grávidas variando em aproximadamente entre 20 a 70 anos de idade (95% central:22–64 anos, mediana: 40 anos). De acordo com um questionário a que responderam, os indivíduos encontravam-se aparentemente saudáveis.

As amostras de sangue foram colhidas em França, na Alemanha e Holanda e em Portugal. Os resultados foram obtidos num laboratório independente na Holanda usando kits IMMULITE. (As amostras foram colhidas em tubos de vidro simples sem anticoagulantes, barreiras de gel, ou aditivos que promovem a coagulação, e doseadas individualmente.)

As medianas e percentis de 95 para subgrupos relevantes estão tabeladas abaixo. Os percentis foram determinados não paramétricamente.

Grupo	Mediano	95%ile	Unidade	*n*
Homens	3,0	18,3	U/mL	428
Mulheres	4,2	18,7	U/mL	370
Combinado	3,5	18,4	U/mL	798

Considere estes limites apenas como *directrizes*. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores de referência.

Limitações

O CA19-9 não é expresso em cerca de 3–7% da população, tanto em indivíduos saudáveis como em doentes que pertencem a um grupo sanguíneo raro de Lewis.[a-/b-]

Os anticorpos heterófilos no soro humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes no ensaio, causando interferência com os imunoensaios *in vitro*. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34: 27-33.] Amostras de doentes expostas em rotina a produtos ou soros de animais podem demonstrar este tipo de interferência, potencial causador de resultados anómalos. Estes reagentes foram formulados para minimizar o risco de interferência, contudo podem ocorrer potenciais interacções entre soros (raros) e componentes do teste. Para fins de diagnóstico, os resultados obtidos neste ensaio devem ser sempre analisados em combinação com o exame clínico, história de medicação do doente e outros achados que possam correlacionar.

Características do Ensaio

Consulte Tabelas e Gráficos para dados *representativos* do desempenho do doseamento. Os resultados são apresentados em U/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.)

Calibração: Até 1000 U/mL

O ensaio é monotorizado com padrão interno feito com materiais qualificados e procedimentos de medição.

Sensibilidade Analítica: 1,0 U/mL

Efeito Hook de Alta Dose:
Nenhum até 50 000 U/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 "Precisão".)

Linearidade: As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. (Ver a tabela de "Linearidade" para dados representativos.)

Recuperação: Às amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 com três soluções CA19-9 (400, 1000 e 2000 U/mL) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recuperação" para dados representativos.)

Especificidade: Os anticorpos são altamente específicos para CA19-9. (Ver tabela de "Especificidade".)

Anticoagulantes: Não apresenta efeito significativo.

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.

Biotina: As amostras que contenham biotina a uma concentração de 1500 ng/ml demonstram uma alteração igual ou inferior a 10% nos resultados. Concentrações de biotina superiores a esta poderão originar resultados incorretos para as amostras de doentes.

Hemolise: A presença de hemoglobina em concentrações até 512 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipémia: A presença de triglicéridos em concentrações até 3000 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Comparação de métodos: O ensaio foi comparado ao Kit GI-MA IMMULITE em 92 amostras. (Zona de concentração de: não detectável a aprox. 1000 U/mL. Ver gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 1,09 (IML) – 0,43 U/mL
r = 0,998

Médias*:*
102 U/mL (IMMULITE 2000)
93,2 U/mL (IMMULITE)

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE is a trademark of
Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2015 Siemens Healthcare Diagnostics.
All rights reserved.

Made in: UK



Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

CE

2018-03-15

PIL2KGI – 23

cc#EU23262, cc#EU23262A, cc#EU23343

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:



Symbol Definition
En: *In vitro* diagnostic medical device
De: Medizinisches Gerät zur *In-vitro* Diagnose
Es: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
Fr: Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
It: Dispositivo medico per diagnostica *in vitro*
Pt: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*



En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo



Symbol Definition
En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante



En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia



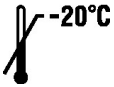
En: CE Mark
De: CE-Kennzeichen
Es: Marca CE
Fr: Marque CE
It: Marchio CE
Pt: Marca CE



En: CE Mark with identification number of notified body
De: CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle
Es: Marca CE con número de identificación del organismo notificado
Fr: Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié
It: Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato
Pt: Marca CE, com número de identificação do organismo notificado



En: Consult instructions for use
De: Bedienungshinweise beachten
Es: Consulte las instrucciones de uso
Fr: Consulter le mode d'emploi
It: Consultare le istruzioni per l'uso
Pt: Consulte as instruções de utilização

Symbol	Definition
	**En:** Caution! Potential Biohazard **De:** Vorsicht! Biologisches Risikomaterial **Es:** ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial **Fr:** Avertissement ! Risque biologique potentiel **It:** Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico **Pt:** Atenção! Potenciais Riscos Biológicos
	**En:** Temperature limitation (2–8°C) **De:** Temperaturgrenze (2–8°C) **Es:** Limitación de temperatura (2–8°C) **Fr:** Limites de température (2–8°C) **It:** Limiti di temperatura (2–8°C) **Pt:** Limites de temperatura (2–8°C)
	**En:** Upper limit of temperature (≤ -20°C) **De:** Obere Temperaturgrenze (≤ -20°C) **Es:** Límite superior de temperatura (≤ -20°C) **Fr:** Limite supérieure de température (≤ -20°C) **It:** Limite superiore di temperatura (≤ -20°C) **Pt:** Limite máximo de temperatura (≤ -20°C)
	**En:** Lower limit of temperature (≥ 2°C) **De:** Mindesttemperatur (≥ 2°C) **Es:** Límite inferior de temperatura (≥ 2°C) **Fr:** Limite inférieure de température (≥ 2°C) **It:** Limite inferiore di temperatura (≥ 2°C) **Pt:** Limite mínimo de temperatura (≥ 2°C)
	**En:** Do not freeze (> 0°C) **De:** Nicht einfrieren (> 0°C) **Es:** No congelar (> 0°C) **Fr:** Ne pas congeler (> 0°C) **It:** Non congelare (> 0°C) **Pt:** Não congelar (> 0°C)
	**En:** Do not reuse **De:** Nicht zur Wiederverwendung **Es:** No reutilizar **Fr:** Ne pas réutiliser **It:** Non riutilizzare **Pt:** Não reutilizar

Symbol	Definition
	**En:** Keep away from sunlight **De:** Vor Sonneneinstrahlung schützen **Es:** Proteger de la luz solar **Fr:** Maintenir hors de portée de la lumière du soleil **It:** Non esporre alla luce del sole **Pt:** Manter afastado da luz solar
	**En:** Batch code **De:** Chargenbezeichnung **Es:** Número de lote **Fr:** Numéro de code du lot **It:** Codice lotto **Pt:** Código de lote
	**En:** Contains sufficient for (n) tests **De:** Es reicht für (n) Tests **Es:** Contiene suficiente para (n) pruebas **Fr:** Contient du matériel suffisant pour (n) tests **It:** Contiene materiale sufficiente per (n) test **Pt:** Contém o suficiente para (n) testes
2008-01	**En:** Date format (year-month) **De:** Datumsformat (Jahr-Monat) **Es:** Formato de fecha (año-mes) **Fr:** Format de la date (année-mois) **It:** Formato data (anno-mese) **Pt:** Formato de data (ano-mês)
	**En:** Use by **De:** Verwendbar bis **Es:** Fecha de caducidad **Fr:** A utiliser avant **It:** Usare entro **Pt:** Usar até
	**En:** Health Hazard **De:** Gesundheitsgefährdung **Es:** Peligro para la salud **Fr:** Dangereux pour la santé **It:** Pericolo per la salute **Pt:** Perigo para a saúde
	**En:** Exclamation Mark **De:** Ausrufezeichen **Es:** Signo de exclamación **Fr:** Point d'exclamation **It:** Punto esclamativo **Pt:** Ponto de exclamação
	**En:** Corrosion **De:** Korrosion **Es:** Corrosión **Fr:** Corrosion **It:** Corrosione **Pt:** Corrosão

Symbol	Definition
	**En:** Skull and Crossbones **De:** Totenkopf mit gekreuzten Knochen **Es:** Calavera y tibias cruzadas **Fr:** Tête de mort sur tibias croisés **It:** Teschio e tibie incrociate **Pt:** Caveira sobre tíbias cruzadas
	**En:** Environment **De:** Umwelt **Es:** Medio ambiente **Fr:** Environnement **It:** Ambiente **Pt:** Ambiente
BEAD PACK	**En:** Bead Pack **De:** Kugel-Container **Es:** Cartucho de bolas **Fr:** Cartouche de billes **It:** Contenitore di biglie **Pt:** Embalagem de esferas
TEST UNIT	**En:** Test Unit **De:** Testeinheit **Es:** Unidades de análisis **Fr:** Unité de test **It:** Test Unit **Pt:** Unidades de Teste
REAG WEDGE **REAG WEDGE A** **REAG WEDGE B** **REAG WEDGE D**	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto

Symbol	Definition
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL **CONTROL 1** **CONTROL 2** **CONTROL 3**	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo

Symbol Definition

CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

H. pylori IgG

For the Detection of IgG Antibodies to *H. pylori* in Human Serum

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 *H. pylori* IgG

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE 2000 Systems Analyzers — for the qualitative detection of IgG antibodies to *Helicobacter pylori* in human serum from symptomatic adults, as an aid in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection.

Catalog Number: **L2KHPG2** (200 tests), **L2KHPG6** (600 tests)

Test Code: **HPG** Color: **Dark Green**

Summary and Explanation

In 1983, Warren and Marshall described a curved bacillus associated with gastric mucosa in cases of chronic gastritis, tentatively drawing comparisons between that organism and the genus *Campylobacter*. More recently, investigators have shown a correlation between colonization with this organism (now termed *Helicobacter pylori*) and gastric and duodenal ulcers and chronic gastritis. *H. pylori* colonization is chronic in nature and appears to cause histological inflammation of the gastric mucosa. When *H. pylori* is eliminated from the gastric mucosa, the inflammation tends to decrease. If the organism recolonizes, the inflammation increases in severity and coincides with the appearance of gastrointestinal symptoms. A lack of gastrointestinal symptoms in the presence of *H. pylori* indicates colonization rather than infection. The most recent clinical studies have confirmed *H. pylori* to be the causative agent for most cases of chronic gastritis and ulcers. Evidence has been presented that *H. pylori* is also associated with gastric carcinoma.

Current procedures for detecting *H. pylori* rely on isolation of the organism from tissue obtained from endoscopic biopsy. The tissue is also tested by histology, gram staining, and/or testing for the enzyme urease, which is produced by the organism in abundance. Each of the methods, including histology and gram staining, require biopsy material taken from multiple sites. In addition to the necessity for performing an invasive gastroscopy, each of these methods suffers from other inadequacies.[6] The presence of *H. pylori* has also been detected with a urea breath test (using radioactive or nonradioactive isotopes) and by serological methods.[14-16]

A positive serological response to *H. pylori* antigens has been determined in individuals with duodenitis, chronic gastritis, and gastric or duodenal ulcer. Further, many people without clinical symptoms are seropositive for *H. pylori* antibodies, with the prevalence increasing with age. Therefore, while *H. pylori* serology is a sensitive method to determine colonization, differentiation between colonization and active disease is not possible.

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 *H. pylori* IgG is a solid-phase, 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 *H. pylori* IgG 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: 10 µL serum.

Automatic Predilution Factor: **20**
Dispense required volume of diluent (L2HPGZ2) to a suitable test tube with barcode label applied.

Storage: 3 days at 2–8°C, or 6 months at –20°C.[17]

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.



CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD
Contains human source material. Each donation of human blood or blood component was tested by FDA-approved methods for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) as well as for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis C virus (HCV). The test results were negative (not repeatedly reactive). No test offers complete assurance that these or other infectious agents are absent; this material should be handled using good laboratory practices and universal precautions.[21-23]

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.

Reagents: Store at 2–8°C. Dispose of in accordance with applicable laws.

The bead is coated with *inactivated H. pylori* antigen. However, caution is advised because of the possible presence of residual organism when working with, or disposing of, the materials supplied.

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.

***H. pylori* IgG Bead Pack (L2HPG12)**
With barcodes. 200 beads, coated with inactivated, partially purified *H. pylori* antigen. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KHPG2: 1 pack. **L2KHPG6:** 3 packs**.**

***H. pylori* IgG Reagent Wedge (L2HPGA2)**
With barcodes. 2 reagents. 11.5 mL buffer solution. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to monoclonal murine anti-human IgG antibody in buffer. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KHPG2: 1 wedge.
L2KHPG6: 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.

***H. pylori* IgG Adjustors (LHPGL, LHPGH)**
Two vials (Low and High), 4 mL each, of human serum with IgG reactive to *H. pylori*, in a buffer, with preservative. Stable at 2–8°C for 14 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KHPG2: 1 set. **L2KHPG6:** 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.

***H. pylori* IgG Controls (LHPGC1, LHPGC2, LHPGC3)**
Three vials, (Negative, Low Positive and Positive), 2 mL each. **LHPGC1 (Negative Control)**: One vial containing human

serum with IgG nonreactive to *H. pylori*, with preservative. **LHPGC2, LHPGC3 (Low Positive Control, Positive Control):** Two vials containing human serum with IgG reactive to *H. pylori*, with preservative. Stable at 2–8°C for 14 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KHPG2: 1 set. **L2KHPG6:** 2 sets.

The IMMULITE 2000 software performs automatic on-board dilution of control samples, and the results will be tracked in the QC database. Enter controls as controls.

For the current control ranges, please refer to the Control insert.

Before running adjustors or controls, place the appropriate Aliquot Labels (supplied with the kit) on test tubes, so that the barcodes can be read by the on-board reader.

***H. pylori* IgG Sample Diluent (L2HPGZ2)**
For the on-board dilution of patient samples and controls. 55 mL concentrated (ready-to-use) buffer solution, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KHPG2: 1 vial. **L2KHPG6:** 1 vial.

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.
L2HPGZ2: 5 labels.

Kit Components Supplied Separately

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate
L2PWSM: Probe Wash
L2KPM: Probe Cleaning Kit
LRXT: Reaction Tubes (disposable)
L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

LHPGCM: Tri-level *H. pylori* IgG Control Module

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 Systems Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval: 1 week.

Quality Control Samples: Use controls supplied with kit.

Interpretation of Results

Positive: A result greater than or equal to 1.1 U/mL is considered to be "positive", and indicates that *H. pylori* IgG antibodies were detected in the sample.

Indeterminate: A result greater than or equal to 0.9 U/mL and less than 1.1 U/mL, is considered to be "indeterminate". Indeterminate samples should be retested. Samples still yielding "indeterminate" values should be examined by an alternate method, or a second sample should be collected, if possible, within a reasonable time period (e.g., one week).

Negative: A result less than 0.9 U/mL is considered to be "negative", and indicates that *H. pylori* IgG antibodies were not detected in the sample. Negative results by this test do not preclude recent primary infection.

The presence of IgG antibodies to *H. pylori* is an indication of previous exposure to the organism. A single specimen can only be used to determine the immune status of the individual.

The anti-*H. pylori* IgG results determined for a given specimen with assays from different manufacturers can vary due to differences in assay methods and reagent specificity. Therefore, the results reported by the laboratory to the physician should include: "The following results were obtained with the IMMULITE 2000 *H. pylori* IgG EIA. Results obtained from other manufacturers' assay methods may not be used interchangeably."

Expected Values

The majority of individuals exposed to *H. pylori* possess IgG antibodies to the organism. In addition, the presence of *H. pylori* antibodies is a function of age,

race, geography and clinical condition.[16] Age-specific rates for *H. pylori* infection are similar for males and females.

The prevalence of *H. pylori* infection is between 30 and 40% in the US and Canada, about 20% in Australia, 70% in Europe, and between 70 and 90% in Africa, South America and Asia.[18]

H. pylori has also been identified as a risk factor for gastric cancer. Nearly 100% of patients with duodenal ulcer, 85% of those with gastric ulcer,[19] and 50 – 100% of patients with gastric cancer are infected with *H. pylori*.[20]

A relatively large proportion of patients who have positive levels of antibody are asymptomatic, even though they are colonized with the *H. pylori* organism. Therefore, antibody levels do not necessarily correlate with the severity of clinical symptoms.[16]

Limitations

For the determination of seroconversion from *nonreactive* to *reactive*, two serum samples should be drawn three to four weeks apart, during the acute and convalescent stages of the infection. The acute phase sample should be stored and tested in parallel with the convalescent sample.

Individuals with an acute *H. pylori* infection may not exhibit any detectable IgG antibodies at the early stage of infection.

The results in HIV patients, in patients undergoing immunosuppressive therapy, or in patients with other disorders leading to immunosuppression, should be interpreted with caution.

The performance characteristics of this assay have not been established for use with specimens from cord blood, neonates, pediatric patients, or pretransplant patients.

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 U/mL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Calibration Range: 0.4 to 8.0 U/mL.

The assay is traceable to an internal standard manufactured using qualified materials and measurement procedures.

Analytical Sensitivity: 0.4 U/mL.

Precision: Six samples were assayed in triplicate over the course of 6 days, two runs per day, for a total of 12 runs and 36 replicates. (See “Precision” table.)

Specificity: The assay is highly specific for *H. pylori* IgG antibodies, with no observed crossreactivity to *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter fetus* and *Campylobacter coli* microorganisms. This conclusion was drawn from a study using the IMMULITE *H. pylori* IgG assay.

Bilirubin: Presence of 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 809 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 20 volunteers into plain, heparinized, EDTA and Becton Dickinson SST® vacutainer tubes. Equal volumes of the matched samples were spiked with various concentrations of *H. pylori* IgG, to obtain values throughout the calibration range of the assay, and

then assayed by the IMMULITE 2000 *H. pylori* IgG procedure.

(Heparin) = 1.06 (Serum) – 0.18 U/mL
r = 0.997

(EDTA) = 1.00 (Serum) – 0.09 U/mL
r = 0.993

(SST) = 1.00 (Plain Tubes) – 0.04 U/mL
r = 0.999

Means:
2.5 U/mL (Serum)
2.5 U/mL (Heparin)
2.4 U/mL (EDTA)
2.4 U/mL (SST)

The results show that heparinized and EDTA plasma yield virtually the same results as serum in the IMMULITE 2000 *H. pylori* IgG procedure.

Method Comparisons: The assay was compared to clinical diagnosis by biopsy on 155 randomly selected retrospective specimens from patients suspected of *H. pylori* infection. A specimen was considered clinically positive if the culture test, or both CLO and histology tests, were positive. A specimen was considered clinically negative if none of the biopsy tests were positive.

IMMULITE 2000

Clinical Diagnosis	Pos	Ind	Neg	Sensitivity	Specificity
Pos	65	2	2	97.0%	100.0%
Neg	0	2	84		

Agreement: 98.7%
Central 95% Confidence Limits for Sensitivity and Specificity, respectively: 89.6% – 99.6% and 95.7% – 100%.

The assay was also compared to IMMULITE *H. pylori* IgG (LKHEQ) procedure on 197 samples. (Concentration range: approximately 0.4 to 7.0 U/mL. See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 0.96 (IML) + 0.05 U/mL
r = 0.992

Means:
2.19 U/mL (IMMULITE 2000)
2.23 U/mL (IMMULITE)

References

1) Antonescu CG, Marshall BJ. Helicobacter pylori: A potentially curable form of peptic ulcer disease. Gastroenterol J Club 1990;1:3-12. 2) Barthel JS, Everett ED. Diagnosis of *campylobacter pylori* infections: the "Gold Standard" and the alternatives. Rev Infec Dis 1990;12 (suppl.1):107-14. 3) DeCross AJ, Peura DA. Role of *H. pylori* in peptic ulcer disease. Contemp Gastroenterol 1992;5:18-28. 4) George LL, Borody TJ, Andrews P, Devine M, Moore-Jones D et al. Cure of duodenal ulcer after eradication of *H. pylori*. Med J Australia 1990;153. 5) Goodwin CS, Armstrong JA, Marshall BJ. *Campylobacterpylori*, gastritis, and peptic ulceration. J Clin Pathol 1986;39:353-65. 6) Graham DY, Klein PD. What you should know about the methods, problems, interpretations, and uses of urea breath tests. Amer J Gastroenterol 1991;86 (9):1118-22. 7) Kosunen TU, Sepälä K, Sarna S, Sipponen P. Diagnostic value of decreasing IgG, IgA, and IgM antibody titers after eradication of *Helicobacter pylori*. Lancet 1992;339:893-5. 8) Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, Chang Y, Vogelman JH et al. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. New Engl J Med 1991;325:1127-31. 9) Rauws EA, Tytgat GNJ. Cure of duodenal ulcer associated with eradication of *Helicobacter pylori*. Lancet 1990;335:1233-5. 10) Talley NJ, Newell DG, Ormand JE, Carpenter HA, Wilson WR et al. Serodiagnosis of *Helicobacter pylori*: Comparison of enzyme-linked immunosorbent assays. J Clin Microbiol 1991;29:1635-9. 11) Jones DM et al. Antibody to the gastric Campylobacter-like organism (*Campylobacter pylori*) — clinical correlations and distribution in the normal population. J Med Microbiol 1986;22:57-62. 12) Thomas JE, Whatmore AM, Barer MR, Eastham EJ, Kehoe MA. Serodiagnosis of *Helicobacter pylori* infection in childhood. J Clin Microbiol 1990;28:2641-6. 13) Warren JR, Marshall BJ. Unidentified curved bacillus on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet 1983;1:1273-5. 14) Fennerty MB. A review of tests for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. Lab Med 1998;29:561-6. 15) Lichetenstein DR. Peptic ulcer disease: clinical options for detecting and eradicating *H. pylori* infection. Mod Med 1994;62: 16) Dunn BE, et al. *Helicobacter pylori*. Clin Microbiol Rev 1997;720-41. 17) Tietz NW, editor. Clinical guide to laboratory tests. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1995:358. 18) Bonney RC. The developing market for *Helicobactor pylori* testing. PJB Publications Ltd, 1997:43-4. 19) Marshall BJ. *Helicobactor pylori*: the etiological agent for peptic ulcer. Journal of the American Medical Association 1995; 274:1064-1067. 20) Vanagunas A. The link between *Helicobactor pylori* and gastric cancer. Infec Med 1998;15:644-640,656. 21) Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. MMWR, 1988;37:377–82, 387–8. 22) Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards

Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3. 23) Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030.

Technical Assistance

In the United States, contact Siemens Healthcare Diagnostics Technical Services department. Tel: 877.229.3711. Outside the United States, contact your National Distributor.

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

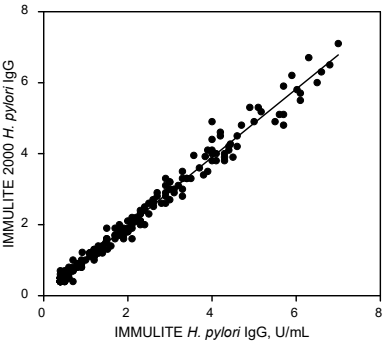
Tables and Graphs

Precision (U/mL)

		Within-Run[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	< 0.4*				
2	0.68	0.015	2.1%	0.017	2.4%
3	1.29	0.041	3.2%	0.043	3.3%
4	2.83	0.107	3.8%	0.101	3.6%
5	5.30	0.206	3.9%	0.208	3.9%
6	7.00	0.282	4.0%	0.480	6.9%

*Results were consistently below 0.4 U/mL. [6]

Method Comparison



(IML 2000) = 0.96 (IML) + 0.05 U/mL
r = 0.992

Deutsch. **Präzision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]S (Standardabweichung), [5]CV (Variationskoeffizient), [6]Ergebnisse waren druchgängig unter 0,4 U/ml.

Español. **Precision**: [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV, [6]Los resultados fueron consistentemente inferiores a 0,4 U/mL.

Français. **Precision**: [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]SD, [5]CV, [6]Results Les résultats ont toujours été inférieurs à 0,4 U/ml.

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione), [6]I risultati erano conformi al di sotto di 0,4 U/mL.

Português. Precision: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação, [6]Os resultados foram consistentemente abaixo de 0,4 U/mL.

Deutsch

H. pylori IgG

Anwendung: Zur in vitro-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme — zur qualitativen Bestimmung von IgG Antikörpern gegen *Helicobacter pylori* aus dem Serum von symptomatischen Erwachsenen, als Hilfsmittel für die Diagnose einer *Helicobacter pylori* Infektion.

Artikelnummern: **L2KHPG2** (200 tests), **L2KHPG6** (600 tests)

Testcode: **HPG** Farbe: **dunkelgrün**

Klinische Relevanz

1983 beschrieben Warren und Marschall ein gebogenes Bakterium aus der Magenschleimhaut, das eine enge Assoziation mit Fällen von chronischer Gastritis aufwies. Vergleichende Untersuchungen dieses Organismus mit der Gattung Campylobacter wurden durchgeführt. In neueren Untersuchungen konnten die Forscher eine Korrelation zwischen der Besiedlung durch den Organismus (jetzt als Helicobacter pylori bezeichnet) und dem Auftreten von Magen- u. Dünndarmgeschwüren sowie chronischer Gastritis zeigen. Eine chronische Besiedlung durch H. pylori scheint eine histologisch nachweisbare Entzündung der Magenschleimhaut hervorzurufen. Eine Eliminierung von H. pylori aus der Darmschleimhaut scheint einen Rückgang der

Entzündungsreaktionen hervorzurufen. Im Falle einer erneuten Besiedlung mit dem Keim sind die Entzündungsreaktionen im Schweregrad und dem Auftreten von gastrointestinalen Symptomen eng verknüpft. Ein Fehlen von gastrointestinalen Symptomen in Gegenwart von H. pylori weist auf eine Besiedlung und nicht auf eine Infektion hin. Neuere klinische Untersuchungen konnten eindeutig die kausative Rolle von H. pylori als Verursacher von chronischer Gastritis und Magenengeschwüren belegen. Das Auftreten von Magengeschwüren in Verbindung mit dem Auftreten von H. pylori steht ebenfalls in einem engen Zusammenhang.

Methoden zum Nachweis von H. pylori basieren auf der Isolierung des Organismus aus endoskopisch gewonnenen Gewebebiopsien. Untersuchungen des Gewebes erfolgen mittels histologischer Methoden, Gramfärbung und dem Nachweis des Enzyms Urease, das vom Organismus im Überschuss produziert wird. Alle Methoden, einschließlich Histologie und Gramfärbung erfordern Biopsiematerial von verschiedenen Stellen. Neben der Notwendigkeit einer invasiven Gastroskopie sind jede dieser Methoden mit gewissen Unzulänglichkeiten verknüpft insbesondere durch die fleckenartige Verteilung des Keims auf der Magenschleimhaut.[6] Das Vorliegen von H. pylori konnte ebenfalls durch einen Atemtest (mittels radioaktiver und nicht-aktiver Isotope) sowie serologischer Methoden nachgewiesen werden.[14–16]

Eine positive serologische Antwort auf H. pylori Antigene konnte bei Personen mit mit Dünndarmentzündung, chronischer Gastritis und Magen- bzw. Dünndarmgeschwüren nachgewiesen werden. Viele Personen ohne klinische Symptome sind seropositiv für H.pylori Antikörper mit einer Prävalenz die mit dem Alter ansteigt. Aus diesem Grund ist die Serologie eine sensitive Methode zum Nachweis einer Besiedlung, eine Differenzierung zwischen Besiedlung und aktiver Erkrankung ist jedoch nicht möglich.

Methodik

IMMULITE 2000 *H. pylori* IgG ist ein Festphasen, Chemilumineszenz immunometrischer Assay.

Inkubationszyklen: 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.

Eine Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig stattgefunden hat. 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 *H. pylori* IgG sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 10 µl Serum.

Faktor für automatische Vorverdünnung: 20
Bitte vor Gebrauch ein Probenröhrchen mit ausreichender Menge Verdünnungs-puffer (L2HPGZ2) und dem entsprechenden Barcode versehen.

Lagerung: 3 Tage bei 2–8°C oder 6 Monate bei –20°C.[17]

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *In-vitro*-Diagnostik.

VORSICHT! BIOLOGISCHES RISIKOMATERIAL
Enthält Material humanen Ursprungs. Alle Blutspenden oder Blutkomponenten menschlicher Herkunft wurden nach FDA-genehmigten Methoden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die HI-Viren Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2) sowie von Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und Antikörpern gegen den Hepatitis C-Virus (HCV) getestet. Die Testergebnisse waren negativ (nicht wiederholt reaktiv). Durch keinen Test kann das Vorhandensein dieser oder anderer infektiöser Stoffe vollständig ausgeschlossen werden. Dieses Material ist mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und gemäß der allgemein anerkannten guten Laborpraxis zu handhaben.[21-23]

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.

Reagenzien: Bei 2–8°C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die Festphase des Systems ist mit inaktiviertem H.pylori Antigen beschichtet. Wegen des potenziellen Vorhandenseins überlebender Mikroorganismen ist jedoch beim Arbeiten und beim Entsorgen von den im Lieferumfang enthaltenen Materialien Vorsicht geboten.

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.

***H. pylori* IgG Kugel-Container (L2HPG12)**
Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln beschichtet mit partiell gereinigtem *H.-pylori*-Antigen. Gekühlt (2–8°C) haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum.
L2KHPG2: 1 Container.
L2KHPG6: 3 Container.

***H. pylori* IgG Reagenzbehälter (L2HPGA2)**
Mit Barcode. 2 Behälter. 11,5 ml einer Pufferlösung. 11,5 ml mit alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugiertes konjugiert mit einem murinem monoklonalen anti-IgG-Antikörper in Pufferlösung. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KHPG2: 1 Behälter.
L2KHPG6: 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.

H. pylori IgG-Kalibratoren (LHPGL, LHPGH)
Zwei Fläschchen, je 4 ml (niedrig und hoch) mit humanem Serum mit Antikörpern gegen *H. pylori*, in Pufferlösung, mit Konservierungsmittel. 14 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KHPG2: 1 Set.
L2KHPG6: 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.

***H. pylori* IgG Kontrollen (LHPGC1, LHPGC2, LHPGC3)**
Drei Fläschchen (negativ, schwach-positive, und positive) à 2 ml. **LHPGC1 (Negativ Kontrolle):** enthält Humanserum mit IgG-Antikörpern nicht reaktiv gegen *H. pylori,* mit Konservierungsmittel.
LHPGC2, LHPGC3 (Schwach-positive Kontrolle, Positive Kontrolle): enthält Humanserum mit IgG-Antikörpern reaktiv gegen *H. pylori,* mit Konservierungsmittel. 14 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KHPG2: 1 Set.
L2KHPG6: 2 Sets.

Die IMMULITE 2000 Software führt automatische on-board-Verdünnungen der Kontrollen durch. Diese können im Qualitätsprogramm rückverfolgt werden. Geben Sie die Kontrollen als Kontrollen ein.

Die Die aktuellen Kontrollbereiche entnehmen Sie bitte dem Kontrolldatenblatt.

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Teströhrchen kleben, so dass die Barcodes vom Barcodereader des Systems gelesen werden können.

***H. pylori* IgG Probenverdünnungspuffer (L2HPGZ2)**
Zum automatischen Verdünnen der Patientenproben und Kontrollen. 55 ml Pufferlösung mit Konservierungsmittel, *flüssig und gebrauchsfertig*. 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KHPG2: 1 Fläsche.
L2KHPG6: 1 Fläsche.

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2HPGZ2: 5 Etiketten.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße
L2ZT: 250 Probenverdünnungsröhrchen (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Deckel für die Probenverdünnungsröhrchen

LHPGCM: *H. pylori* IgG Kontrollmodul in drei Konzentrationen

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Röhrchen.

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Verdünnung, Kalibration, Test- und Qualitätskontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme.

Empfohlenes Kalibrationsintervall: 1 Woche.

Qualitätskontrollproben: Die im Lieferumfang enthaltene(n) Kontrolle(n) verwenden.

Interpretation der Ergebnisse

Normalwerte

Positiv: Ein Ergebnis ≥ 1,1 U/ml gilt als positiv und zeigt an, dass IgG-Antikörper gegen H. pylori in der Probe nachgewiesen wurden.

Grenzwertig: Ergebnisse im Bereich ≥ 0,9 U/ml und < 1,1 U/ml sind grenzwertig. Grenzwertige Ergebnisse sollten wiederholt werden. Proben, die auch nach Wiederholung ein grenzwertiges Ergebnis aufweisen, sollten mit einer alternativen Methode getestet werden, bzw. sollte eine zweite Probe innerhalb eines angemessenen Zeitraums (z. B. eine Woche) getestet werden.

Negativ: Konzentrationen < 0,9 U/ml gelten als negativ. Ein negatives Ergebnis schließt eine primäre Infektion jedoch nicht völlig aus.

Ein positiver Antikörpernachweis ist ein Indiz für eine vorangegangene Exposition des Patienten mit *H. pylori*. Basierend auf dem Ergebnis einer einzelnen Probe kann nur der Immunstatus des Patienten

definiert werden, ohne Hinweis auf das aktuelle Infektionsgeschehen.

H.pylori IgG Ergebnisse für bestimmte Proben ermittelt mit Testsystemen verschiedener Hersteller können aufgrund unterschiedlicher Testmethoden and Spezifität der Reagenzien von einander abweichen. Daher sollten die vom Labor an den Arzt gemeldeten Ergebnisse folgenden Passus enthalten: Die folgenden Ergebnisse wurden mit dem IMMULITE 2000 *H. pylori* IgG Testsystem ermittelt. Sie sind mit den Ergebnissen anderer Hersteller nicht zu vergleichen.

Referenzwerte

Die Mehrzahl *H. pylori* exponierter Personen entwickelt IgG Antikörper gegen diesen Organismus. Daneben ist das Vorhandensein H.pylori spezifischer Antikörper abhängig von Alter, Rasse geographischen Eigenheiten und klinischem Allgemeinzustand abhängig.[16] Die Altersabhängige Infektionsrate mit H.pylori ist für Männer und Frauen ähnlich.

Die Prävalenz für *H. pylori* Infektionen beträgt in USA und Kanada zwischen 30% u.40%, ca. 20% in Australien, 70% in Europa und zwischen 70% u. 90% in Afrika, Südamerika und Asien.[18]

H. pylori ist bekannt als Risikofaktor für Magenkrebs. Annähernd 100% der Patienten mit Dünndarmgeschwüren, 85% von solchen mit Magengeschwüren[19] und 50–100% von Patienten mit Magenkrebs sind mit *H. pylori* infiziert.[20]

Ein relativ großer Anteil der antikörper-positiven Patienten ist klinisch asymptomatisch, obwohl nachweislich eine Besiedlung mit *H. pylori* besteht. Die Höhe der nachgewiesenen Antikörpertiter muß also nicht direkt mit der Schwere der klinischen Symptomatik korrelieren.[16]

Grenzen der Methode

Zum Nachweis der Serokonverion von “nicht-reaktiv” zu “reaktiv” sollten 2 Proben im Abstand von 3 bis 4 Wochen während der akuten und der konvaleszenten Phase der Infektion abgenommen werden. Die zuerst gewonne Probe der aktuen Phase sollte aufbewahrt werden und zusammen mit der zweiten Probe in einem Ansatz bestimmt werden.

Im Frühstadium einer Infektion ist es möglich, dass IgG Antikörper noch nicht nachweisbar sind.

Ergebnisse von HIV-Patienten, Patienten unter immunsuppresssiver Therapie oder Patienten mit Erkrankungen die zur Immunsuppression führen sind mit Vorsicht zu interpretieren.

Die Testcharakteristika dieses Testbetsecks ist nicht für Nabelschnurblut, Neugeborene, pädiatrische Patienten oder Prätransplantationspatienten validiert.

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 U/ml ausgedrückt. (Alle Daten wurden – sofern nicht anders angegeben – aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Messbereich: 0,4 – 8,0 U/ml.

Die Methode ist rückführbar auf einen internen Standard, der mittels qualifizierter Materialien und Messmethoden hergestellt wurde.

Analytische Sensitivität: 0,4 U/ml.

Präzision: Proben wurden innerhalb von 6 Tagen mit jeweils zwei Testansätzen in Doppelbestimmung gemessen (insgesamt 12 Bestimmungen und 36 Einzelmessungen; siehe Tabelle „Precision“).

Spezifität: Der Test ist hochspezifisch für IgG Antikörper gegen *H. pylori*. In einer Studie mit IMMULITE *H. pylori* IgG konnten keine Kreuzreaktionen mit *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter fetus* und *Campylobacter coli* Mikroorganismen festgestellt werden.

Bilirubin: Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 809 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.

Alternativer Probentyp: Um die Auswirkungen von verschiedenen Probenarten zu untersuchen, wurde Blut von 20 Freiwilligen in Röhrchen ohne Additiva, in Heparin-, EDTA- und Becton Dickinson SST® Vacutainer-Rörchen gesammelt. Gleiche Volumina der jeweiligen Proben wurden mit verschiedenen Konzentrationen an *H. pylori* IgG versetzt, um Werte im gesamten Kalibrationsbereich zu erhalten, und die Proben anschließend mit dem IMMULITE 2000 Assay für *H. pylori* IgG gemessen.

(Heparin) = 1,06 (Serum) – 0,18 U/ml
r = 0,997

(EDTA) = 1,00 (Serum) – 0,09 U/ml
r = 0,993

(SST) = 1,00 (einfachen Röhrchen) – 0,04 U/ml
r = 0,999

Mittelwerte:
2,5 U/ml (Serum)
2,5 U/ml (Heparin)
2,4 U/ml (EDTA)
2,4 U/ml (SST)

Die Ergebnisse zeigen, dass mit dem IMMULITE 2000 *H. pylori* IgG im Heparin- und EDTA-Plasma praktisch die gleichen Ergebnisse wie im Serum erzielt werden.

Methodenvergleich: Bei 155 zufällig retrospektiv ausgewählten Proben von Personen mit Verdacht auf H.pylori Infektion wurde der Test mit der klinischen Diagnose mittels Biopsie verglichen Eine Probe wurde als positiv gewertet wenn der kulturelle Nachweis oder der CLO-Test und histologische Nachweisverfahren positiv waren.

	IML 2000				
klin. Diagnose	Pos	grenzw.	Neg	Sensitivität	Spezifität
Pos	65	2	2	97,0%	100,0%
Neg	0	2	84		

Übereinstimmung: 98,7%
Central 95% Konfidenzintervall für Sensitivität und Spezifität, betrugen: 89,6% – 99,6% und 95,7% – 100%.

197 Proben wurden in diesem Test ebenfalls mit dem IMMULITE *H. pylori* IgG (LKHEQ) verglichen: (Konzentrationsbereich ca 0,4 bis 7,0 U/ml Siehe Grafik.) Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 0,96 (IML) + 0,05 U/mL
r = 0,992

Mittelwert:
2,19 U/mL (IMMULITE 2000)
2,23 U/mL (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

H. Pylori IgG

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE 2000 — para la medición cualitativa de anticuerpos IgG para *Helicobacter pylori* en suero humano de adultos sintomáticos como ayuda en el diagnóstico de infección *de Helicobacter pylori*.

Números de Catálogo: **L2KHPG2** (200 tests), **L2KHPG6** (600 tests)

Código del Test: **HPG**
Color: **verde oscuro**

Resumen y Explicación del Test

En 1983, Warren y Marshall describieron un bacilo curvado asociado a la mucosa gástrica en casos de gastritis crónica, estableciendo comparaciones, de forma tentativa, entre este organismo y el género *Campylobacter*. Más recientemente, los investigadores han demostrado una correlación entre la colonización por parte de este organismo (ahora denominado *Helicobacter pylori*) y la úlcera gástrica y duodenal y la gastritis crónica. La colonización por *H. pylori* es de naturaleza crónica y parece causar la inflamación histológica de la mucosa gástrica. Cuando se elimina *H. pylori* de la mucosa gástrica, la inflamación tiende a reducirse. Si el organismo recoloniza, la inflamación aumenta en gravedad y coincide con la aparición de síntomas gastrointestinales. La ausencia de síntomas gastrointestinales en presencia de *H. pylori* indica colonización, en lugar de infección. Las pruebas clínicas más recientes han confirmado que *H. pylori* es el agente causante de la mayoría de los casos de gastritis crónica y de úlcera. Se han presentado evidencias que asocian también a *H. pylori* con el carcinoma gástrico.

Los procedimientos actuales de detección de *H. pylori* se basan en el aislamiento del organismo a partir del tejido obtenido por biopsia endoscópica. También se examina el tejido por medio de histología, tinción gram y análisis de la enzima ureasa, que el organismo produce en abundancia. Cada uno de los métodos, incluyendo la histología y la tinción gram, requiere material de biopsia tomado de múltiples puntos. Además de la necesidad de ejecutar una gastroscopía invasiva, cada uno de estos métodos conlleva otros inconvenientes.[6] La presencia de *H. pylori* se ha detectado también con un análisis de urea en aliento (usando isótopos radiactivos) y por métodos serológicos.[14-16]

Se ha determinado una respuesta serológica a antígenos de *H. pylori* en individuos con duodenitis, gastritis crónica y úlcera gástrica o duodenal. Además, muchas personas que no tienen síntomas clínicos son seropositivas para anticuerpos de *H. pylori*, aumentando la frecuencia con la edad. Por tanto, aunque la serología de *H. pylori* es un método sensible para determinar la colonización, la diferenciación entre colonización y enfermedad activa no resulta posible.

Principio del análisis

IMMULITE 2000 *H. Pylori* IgG es un ensayo inmunométrico quimioluminiscente en fase sólida.

Ciclos de incubación: 2 × 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 centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El *H. Pylori* IgG 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: 10 µl suero.

Factor de Predilución automático: 20
Dispensar el volumen necesario de diluyente (L2HPGZ2) al tubo específico.

Conservación: 3 días a 2–8°C, o 6 meses a –20°C.[17]

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

¡PRECAUCIÓN! RIESGO BIOLÓGICO POTENCIAL
Contiene material de origen humano. Cada donación de sangre humana o componente sanguíneo ha sido probada por métodos aprobados por la FDA con el fin de detectar la presencia de anticuerpos de los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2), así como el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y el anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (VHC). Los resultados de estas pruebas fueron negativos (no repetidamente reactivos). Ninguna prueba ofrece total garantía de que en las muestras no haya estos agentes infecciosos u otros; por tanto, este material se deberá manipular conforme a las prácticas recomendables de laboratorio y las precauciones universales.[21-23]

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.

Reactivos: Mantener a 2–8°C. Desechar de acuerdo con las normas aplicables.

La bola está recubierta con antígeno *H. pylori inactivado*. Sin embargo, se recomienda tomar precauciones debido a la posible presencia de organismos residuales, cuando se trabaje con el material suministrado y cuando se deseche.

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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las cañerías de cobre y plomo.

Substrato quimioluminiscente: Evitar la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto).

Agua: Usar agua destilada o desionizada.

Materiales Suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

Cartucho de bolas de *H. Pylori IgG* (L2HPG12)
Con códigos de barras. 200 bolas recubiertas con antígeno de *H. pylori* inactivado, parcialmente purificado. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KHPG2: 1 cartucho.
L2KHPG6: 3 cartuchos.

Vial de reactivo de *H. Pylori IgG* (L2HPGA2)
Con códigos de barras. 11,5 ml de una solución tampón. 11,5 ml fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con anticuerpo monoclonal murino anti-IgG humana en solución tampón. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KHPG2: 1 vial. **L2KHPG6:** 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 *H. Pylori IgG* (LHPGL, LHPGH)
Dos viales (bajo y alto) de cada uno con 4 ml de suero humano con IgG reactiva a *H. pylori*, en solución tampón, con conservante. Estable a 2–8°C durante 14 días después de abrise o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KHPG2: 1 juego. **L2KHPG6:** 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.

Controles de *H. Pylori IgG* (LHPGC1, LHPGC2, LHPGC3)
Tres viales de cada uno con 2 ml.
Negativo (LHPGC1): Un vial de suero

humano con IgG no reactiva a *H. pylori*, con conservante. **Bajo Positivo (LHPGC2)** & **Positivo (LHPGC3):** Dos viales de suero humano con IgG reactiva a *H. pylori*, con conservante. Estable a 2–8°C durante 14 días después de abrise o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KHPG2: 1 juego. **L2KHPG6:** 2 juegos.

El software del IMMULITE 2000 realiza una dilución automática en el instrumento de las muestras de los controles, y los resultados serán mostrados en la base de datos del control de calidad. Introduzca los controles como controles en la Lista de trabajo.

Para los intervalos control actuales, por favor consulte el prospecto del Control.

Antes de procesar adjustadores o controles, 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.

Diluyente de *H. Pylori IgG* (L2HPGZ2)
Para la dilución de las muestras del paciente y controles que van a analizarse. 55 ml solución tampón, con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KHPG2: 1 vial
L2KHPG6: 1 vial

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 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2HPGZ2: 5 etiquetas.

Componentes del kit que se suministran por separado

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 × 100 mm)
L2ZC: 250 Casquillos Del Tubo Del Diluyente De la Muestra

LHPGCM: Módulo de control *H. Pylori IgG* de tres niveles

También necesario
Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo

Ensayo

Aviso: para obtener un funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para: la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste: 1 semana.

Muestras de Control de calidad: Use los controles suministrados junto con el kit.

Interpretación de los resultados

Positivo: Un resultado mayor o igual a 1,1 U/ml se considera "positivo", e indica que se han detectado anticuerpos IgG para *H. pylori* en la muestra.

Indeterminado: Un resultado mayor o igual a 0,9 U/mL y menor de 1,1 U/mL, es considerado "indeterminado". Las muestras indeterminadas podrían ser reensayadas. Las muestras que aún así permaneccan como indeterminadas podrían ser analizadas por un metodo alternativo, o una segunda muestra podría ser recogida, dentro de un margen de tiempo razonable (e.j., una semana).

Negativo: Un resultado inferior a 0,9 U/ml se considera "negativo", e indica que no se han detectado anticuerpos IgG para *H. pylori* en la muestra. Los resultados negativos de este análisis no excluyen la posibilidad de una infección primaria reciente.

La presencia de anticuerpos IgG para *H. pylori* indica una exposición previa al organismo. Sólo puede utilizarse una única muestra para determinar el estado inmunitario del individuo.

Los resultados determinados para una muestra dada mediante ensayos de distintos fabricantes pueden variar debido a diferencias en los métodos de ensayo y a la especificidad del reactivo. Los resultados enviados por el laboratorio al facultativo deberían incluir lo siguiente:

"Los siguientes resultados se han obtenido con el ensayo de H. pylori IgG IMMULITE 2000. No se pueden intercambiar con los valores obtenidos con los métodos de ensayo de otros fabricantes."

Valores Esperados

La mayoría de los individuos expuestos a *H. pylori* poseen anticuerpos IgG para el organismo. Además, la presencia de anticuerpos para *H. pylori* está en función de la edad, raza, geografía y estado clínico.[16] Las proporciones específicas por edades de la infección por *H. pylori* son similares para hombres y mujeres.

La prevalencia de la infección de *H. pylori* infection está entre el 30 y 40% en US y Canadá, sobre 20% en Australia, 70% en Europa, y entre 70 y 90% en Africa, Sur de America Asia.[18]

H. pylori ha sido también identificado como factor de riesgo de cancer gastrico.Cerca del 100% en pacientes con ulcera duodenal, 85% de los cuales presentan úlcera gástrica,[19] y 50 – 100% de los pacientes con cancer gástrico están infectados por *H. pylori*.[20]

Una proporción relativamente grande de pacientes con niveles positivos de anticuerpo son asintomáticos, aunque estén colonizados por el organismo *H. pylori*. Por tanto, los niveles de anticuerpo no se correlacionan necesariamente con la gravedad de los síntomas clínicos.[16]

Limitaciones

Para la determinación de la seroconversión de *no reactivo* a *reactivo*, deben tomarse dos muestras de suero, separadas por tres o cuatro semanas, durante las etapas aguda y de convalecencia de la infección. La muestra de la fase aguda debe almacenarse y analizarse en paralelo con la muestra de convalecencia.

Los individuos con infección aguda por *H. pylori* pueden no exhibir anticuerpos IgG detectables en las primeras etapas de la infección.

Los resultados de pacientes infectados con el virus VIH, pacientes sometidos a una terapia inmunosupresiva, o en pacientes con otros desórdenes que originen inmunosupresión, deben interpretarse con cautela.

Las características de rendimiento de este ensayo no se han establecido para su uso con muestras de recién nacidos, sangre del cordón umbilical o pacientes pretrasplantados.

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988:34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasione un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia, no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

Características Analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo ver las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en U/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).

Intervalo de calibración: 0,4 – 8,0 U/ml

El ensayo es trazable a un estándar interno fabricado usando procedimientos de medida y materiales cualificados.

Sensibilidad: 0,4 U/ml

Precisión: Las muestras fueron analizadas por duplicado durante 6 días, en dos tandas de trabajo por día, para un total de 12 tandas y 36 replicados. (Ver la tabla de “Precision”.)

Especificidad: El ensayo es altamente especifico para anticuerpos IgG frente a *H. pylori*, sin que presenten reacción cruzada a *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter fetus* y *Campylobacter*

coli. Esta conclusión se obtuvo de un estudio con el ensayo IMMULITE de *H. pylori* IgG.

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina, en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Hemolisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 809 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 tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Tipo de Muestra Alternativa: para evaluar el efecto de los diferentes tipos de muestras alternativos, se recogió sangre de 20 voluntarios en tubos normales, tubos con Heparina, tubos con EDTA y tubos vacutainer SST® de Becton Dickinson. Volúmenes iguales de las diferentes muestras fueron sobrecargadas con diferentes concentraciones de *H. Pylori* IgG, con la finalidad de cubrir todo el rango de calibración del ensayo, y procesadas con el procedimiento *H. Pylori* IgG IMMULITE 2000.

(Heparina) = 1,06 (Suero) – 0,18 U/ml
r = 0,997

(EDTA) = 1,00 (Suero) – 0,09 U/ml
r = 0,993

(SST) = 1,00 (tubos simples) – 0,04 U/ml
r = 0,999

Medias:
2,5 U/ml (Suero)
2,5 U/ml (Heparina)
2,4 U/ml (EDTA)
2,4 U/ml (SST)

Los resultados muestran que el plasma heparinizado y el EDTA proporcionan virtualmente los mismos resultados que el suero con el ensayo *H. Pylori* IMMULITE 2000.

Comparación de los métodos: El ensayo fué comparado frente a 155 muestras al azar de pacientes bajo sospecha de infección por *H. Pylori,* diagnosticadas clinicamente por biopsia. Un especimen fué considerado clinicamente positivo si el cultivo, o ambos CLO y biopsia, fuesen positivos. Un especimen fué considerado clinicamente negativo si ninguna de las biopsias fué positiva.

IMMULITE 2000

Diagnóstico Clínico	Pos	Ind	Neg	Sensibilidad	especificidad
Positivo	65	2	2	97,0%	100%
Negativo	0	2	84		

Concordancia: 98,7%
95% de límites de confianza para la sensibilidad y la especificidad relativas: 89,6% – 99,6% y 95,7% – 100%, respectivamente.

El ensayo se ha comparado con el *H. pylori* IgG IMMULITE (LKHEQ) en 197 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente 0,4 a 7,0 U/ml. Véase el gráfico). Por regresión lineal:

(IML 2000) = 0,96 (IML) + 0,05 U/ml
r = 0,992

Medias:
2,19 U/ml (IMMULITE 2000)
2,23 U/ml (IMMULITE)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

IMMULITE 2000 *H. Pylori* IgG

Domaine d'utilisation : Dosage qualitatif des IgG anti-*Helicobacter pylori* dans le sérum humain. Réservé à un usage diagnostique *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000, comme une aide au diagnostic des infections par *Helicobacter pylori*.

Référence catalogue : **L2KHPG2** (200 tests), **L2KHPG6** (600 tests)

Code produit : **HPG**.
Code couleur : **vert fonce**.

Introduction

En 1983, Warren et Marshall décrivent un bacille incurvé associé aux muqueuses gastriques dans des cas de gastrite chronique et font prudemment le

rapprochement entre cet organisme et le genre *Campylobacter*. Plus récemment, des chercheurs ont montré une corrélation entre une colonisation par cet organisme (maintenant appelé *Helicobacter pylori)* et les ulcères duodénaux et gastriques, et la gastrite chronique. La colonisation par *H. pylori* est par nature chronique et semble causer une inflammation histologique de la muqueuse gastrique. Quand *H. pylori* est éliminé de la muqueuse gastrique, l'inflammation tend à décroître. Si le microorganisme colonise à nouveau, l'inflammation devient plus sévère et coïncide avec l'apparition de symptômes gastro-intestinaux. Une absence de symptômes gastro-intestinaux en présence de *H. pylori* dénote une colonisation plus qu'une infection. Les essais cliniques les plus récents ont confirmé que *H. pylori* est bien l'agent causal de la plupart des gastrites chroniques et des ulcères. Des éléments laissent à penser que *H. pylori* est aussi associé au cancer de l'estomac.

Les procédures actuelles de détection de *H. pylori* reposent sur un isolement du microorganisme à partir d'une biopsie tissulaire endoscopique. Le tissu est également examiné en histologie, par coloration de Gram et/ou dosage de l'uréase, que produit en abondance ce microorganisme. Chacune des méthodes, y compris l'histologie et la coloration de Gram, impose de réaliser des biopsies en plusieurs sites. En plus de nécessiter une gastroscopie invasive, chacune de ces trois méthodes présente d'autres faiblesses.[6] La présence de l'*H. pylori* est également recherchée par le test respiratoire à l'urée (utilisant ou non des isotopes) et par les méthodes sérologiques.[14-16]

Une réponse sérologique positive aux antigènes *H. pylori* a été observée dans des cas de duodénite, de gastrite chronique ou d'ulcère gastrique ou duodénal. De plus, de nombreux individus asymptomatiques sont séropositifs pour les anticorps anti-*H. pylori*, avec une prévalence accrue avec l'âge. Par conséquent, si la sérologie est une méthode sensible pour déterminer la colonisation, la différenciation entre colonisation et maladie active n'est pas possible.

Principe du test

IMMULITE 2000 *H. Pylori* IgG est un dosage chimiluminescent immunométrique, 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 dûs 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 IMMULITE 2000 *H. Pylori* IgG 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 : 10 µl sérum

Facteur de predilution automatique : 20
Distribuer le volume nécessaire de diluant (L2HPGZ2) dans un tube avec code-barres correspondant.

Conservation : 3 jours à +2°C/+8°C ou 6 mois à –20°C.[17]

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.



AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL
Contient du matériel d'origine humaine. Chaque don de sang ou de composant sanguin humain a été testé selon des méthodes homologuées par la FDA afin de détecter la présence d'anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2), ainsi que la présence d'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) et d'anticorps anti-virus de l'hépatite C (VHC). Les résultats de ces tests se sont révélés négatifs (ou positifs mais de façon non répétable). Aucun test ne peut garantir totalement l'absence d'agents infectieux tels que ceux-ci ou d'autres. Par conséquent, ce matériel doit être manipulé conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux précautions universelles.[21-23]

ATTENTION : Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.

Réactifs : conserver les réactifs à +2/ +8 °C. Eliminer les déchets conformément à la réglementation en vigueur.

La bille est revêtue d'antigène *H. pylori inactivé.* Cependant, des microorganismes ayant pu subsister, la prudence est recommandée lors de la manipulation ou de l'élimination des produits fournis.

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 *H. Pylori IgG* (L2HPG12)
Avec code-barres. 200 billes revêtues d'antigène *H. pylori* inactivé, partiellement purifié. Stable à +2C/+8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KHPG2 : 1 cartouche.
L2KHPG6 : 3 cartouches.

Cartouche à réactif *H. Pylori IgG* (L2HPGA2)
Avec code-barres. 2 réactifs. 11,5 ml de solution tampon, 11,5 ml d'anticorps monoclonal murin anti-IgG humaine conjugué à de la phosphatase alcaline d'intestins de veau dans un tampon. Stable à +2C/+8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KHPG2 : 1 cartouche.
L2KHPG6 : 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 *H. Pylori IgG* (LHPGL, LHPGH)
2 flacons ("haut" et "bas") de 4 ml chacun contenant des IgG anti-*H. pylori*, dans du sérum humain tamponné, avec conservateur. Stable à +2/ +8°C pendant 14 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KHPG2 : 1 jeu. **L2KHPG6 :** 2 jeux.

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

Contrôles *H. pylori* IgG (LHPGC1, LHPGC2, LHPGC3)
3 flacons (Contrôle négatif, Contrôle faiblement positif, Contrôle positif) 2 ml chacune. **LHPGC1 (Contrôle négatif) :** Un flacon contenant du sérum humain non réactif aux IgG *H. pylori*, avec conservateur. **LHPGC2, LHPGC3 (Contrôle faiblement positif, Contrôle positif) :** Deux flacons contenant du sérum humain avec des IgG réactives à *H. pylori*, avec conservateur. Stable à +2/ +8°C pendant 14 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KHPG2 : 1 jeu. **L2KHPG6 :** 2 jeux.

Le logiciel de l'IMMULITE 2000 réalise automatiquement les dilutions à bord des échantillons de contrôles, les résultats sont alors importés dans la base de données QC. Entrer les contrôles (comme des contrôles).

Pour connaître la valeur de ratio contrôle actuelle, veuillez vous reporter à la notice d'emploi du contrôle.

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

Diluant échantillon *H. Pylori IgG* (L2HPGZ2)
Pour la dilution par l'appareil des échantillons cliniques et des contrôles. 55 ml concentré prêt à l'emploi, solution tamponnée avec conservateur. Stable à +2/ +8°C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KHPG2 : 1 flacon
L2KHPG6 : 1 flacon

Les étiquttes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 × 100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2HPGZ2 : 5 étiquettes.

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)
L2ZT : 250 Tubes À essai De Diluant échantillon (16 × 100 mm)
L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

LHPGCM: Contrôle *H. pylori* IgG, à trois niveaux de concentration

Egalement requis
Eau distillée ou désionisée ; tubes en verre.

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000.

Voir le Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000 pour : la préparation, le démarrage du système, la dilution, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé : 1 semaine.

Echantillons pour le contrôle de qualité : utiliser le(s) contrôle(s) fournis avec le coffret.

Interprétation des résultats

Positif : Un résultat supérieur ou égal à 1,1 U/ml est considéré comme «positif » et signifie que des IgG anti-*H. pylori* ont été détectées dans l'échantillon.

Indéterminé : Un résultat > ou = à 0,9 U/ml et < à 1,1 UI/ml est considéré comme "indéterminé". Les échantillons indéterminés doivent être retestés. Si après retest les échantillons demeurent indéterminés, ils doivent être testés par une autre méthode ou un second prélèvement doit être effectué dans un intervalle de temps suffisant (par exemple, une semaine).

Négatif : Un résultat inférieur à 0,9 U/ml est considéré comme «négatif » et signifie que des IgG anti-*H. pylori* n'ont pas été détectés dans l'échantillon. Un résultat négatif avec ce test n'exclut pas une primo-infection.

La présence d'IgG anti-*H. pylori* témoigne d'une exposition antérieure au microorganisme. Un prélèvement unique ne peut servir qu'à établir le statut immunitaire de l'individu.

Pour un échantillon donné, la concentration mesurée par les coffrets de dosage de différents fabricants pourra varier en raison des différences dans les méthodes utilisées et de la spécificité des réactifs. Les résultats adressés par le laboratoire au médecin devront comporter la mention suivante : « Les résultats suivants ont été obtenus avec le test IMMULITE 2000 *H. pylori* IgG. Les résultats obtenus avec d'autres méthodes de dosage ne doivent pas être interchangés. »

Valeurs de référence

La majorité des individus exposés à *H. pylori* possèdent des IgG dirigées contre ce microorganisme. De plus, la présence d'anticorps anti-*H. pylori* dépend de l'âge, de la race, de la situation géographique et de l'état clinique.[16] Les taux en fonction de l'âge sont identiques chez l'homme et la femme, dans le cas d'infection à *H. pylori.*

La prévalence des infections à *H. pylori* se situe entre 30 et 40% aux US et Canada, environ 20% en Australie et 70% en Europe et entre70 et 90% en Afrique, Amérique du Sud et Asie.[18]

H. pylori a également été identifié comme un facteur de risque des cancers gastriques.Pratiquement 100% des patients atteints d'ulcère doudénal, 85% d'ulcère gastrique et entre 50 et 100% des patients atteints de cancer gastrique présentent une infection par *H. pylori*.[20]

Une proportion relativement élevée de patients ayant des titres d'anticorps positifs sont asymptomatiques, même s'ils sont colonisés par *H. pylori*. Les titres d'anticorps ne coïncident donc pas nécessairement avec la sévérité des symptômes cliniques.[16]

Limites

Pour mettre en évidence une séroconversion *réactive ou non,* deux prélèvements devront être réalisés à 3 ou 4 semaines d'intervalle, au cours de la phase aiguë et de la phase de convalescence de l'infection. L'échantillon de phase aiguë devra être conservé et testé en parallèle de l'échantillon de convalescence.

Il est possible que les IgG spécifiques ne soient pas détectables au cours du stade précoce d'une infection aiguë à *H. pylori.*

Les résultats obtenus pour des patients VIH$^+$, des patients suivant un traitement immunosuppresseur ou des patients immunodéprimés, devront être interprétés avec précaution.

Les performances de ce dosage ne sont pas connues pour des échantillons provenant de sang de cordon, de nouveau-nés ou de patients transplantés.

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec les immunodosages in vitro. [Voir Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988:34:27-33.] Les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre des sérums rares et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en U/ml. (En l'absence d'indication contraire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques recueillis en tubes, sans gel ni activateur de la coagulation).

Domaine de mesure : 0,4 – 8,0 U/ml

Le dosage peut être retracé à un standard interne, manufacturé à l'aide de matériaux et procédures de mensuration qualifiées.

Sensibilité analytique : 0,4 U/ml

Précision : les valeurs ont été établies à partir de doublets dosés dans deux séries différentes chaque jour pendant 6 jours soit au total 12 séries et 36 doublets. (Voir le tableau " Precision ".)

Spécificité : le test est hautement spécifique des anticorps IgG anti-*H. pylori*. Aucune réaction croisée n'a été observée avec *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter fetus* and *Campylobacter coli* microorganisms. Cette conclusion est tirée des études effectuées sur le test IMMULITE *H. pylori* IgG.

Bilirubine : La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage 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 809 mg/dl.

Lipémie : La présence de triglycérides ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 3 000 mg/dl.

Autres types d'échantillons: pour estimer l'effet de l'utilisation de différents type d'échantillons, 20 volontaires ont été prélevés sur tubes secs, héparinés, EDTA et sur tubes vacutainer SST® Becton Dickinson. Des volumes égaux de ces différents échantillons ont été mélangés avec plusieurs concentrations d' *H. Pylori IgG* pour obtenir des valeurs à l'intérieur du domaine de mesure du test puis dosés avec le protocole l'IMMULITE 2000 *H. Pylori* IgG.

(Hépariné) = 1,06 (Sérum) – 0,18 U/ml
r = 0,997

(EDTA) = 1,00 (Sérum) – 0,09 U/ml
r = 0,993

(SST) = 1,00 (tubes ordinaires) – 0,04 U/ml
r = 0,999

Moyennes:
2,5 U/ml (Hépariné)
2,4 U/ml (EDTA)
2,4 U/ml (SST)
2,5 U/ml (Sérum)

Ce dosage IMMULITE 2000 *H. pylori* donne les mêmes résultats sur sérum et plasma hépariné ou EDTA.

Comparaison de méthodes : Ce test a été comparé à la biopsie chez 155 sujets sélectionnés rétrospectivement et suspects d'être infectés par *H. pylori*. Le patient a été considéré comme positif si la culture, le CLO et l'histologie étaient positives. L'échantillon a été considéré comme négatif si aucun de ces tests n'étaient positifs.

	IMMULITE 2000				
Diagnostic clinique	Pos	Ind	Neg	Sensibilité	Spécificité
Pos	65	2	2	97,0%	100%
Neg	0	2	84		

Concordance : 98,7%
Limites de confiance à 95% pour la sensibilité relative et la spécificité relative, respectivement: 89,6% – 99,6% et 95,7% – 100%.

Le test a été comparé au test IMMULITE *H. pylori* IgG (LKHEQ) sur 197 échantillons (les concentrations allaient de 0,4 à 7,0 U/ml environ. Voir graphique). Par régression linéaire :

(IML 2000) = 0,96 (IML) + 0,05 U/ml
r = 0,992

Moyenne:
2,19 U/ml (IMMULITE 2000)
2,23 U/ml (IMMULITE)

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

Le Système Qualité de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. est certifié ISO 13485.

Italiano

IMMULITE 2000 *H. Pylori* IgG

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE 2000 — per la determinazione qualitativa degli anticorpi IgG anti-*Helicobacter pylori* nel siero umano di pazienti adulti asintomatici, quale ausilio nella diagnosi dell'infezione da *Helicobacter pylori*.

Codice: **L2KHPG2** (200 test), **L2KHPG6** (600 test)

Codice del Test: **HPG**
Colore: **Verde Scuro**

Riassunto e Spiegazione del Test

Nel 1983, Warren e Marshall hanno descritto un bacillo ricurvo associato alla mucosa gastrica nei casi di gastrite cronica, stabilendo dei paragoni tra questo

organismo ed il genere *Campylobacter*. Più recentemente, gli studiosi hanno dimostrato l'esistenza di una correlazione tra la colonizzazione con questo organismo (oggi denominato *Helicobacter pylori*) le ulcere gastriche e duodenali e la gastrite cronica. La colonizzazione dell'*H. pylori* è cronica in natura e sembra determinare l'infiammazione istologica della mucosa gastrica. Quando l'*H. pylori* viene eliminato dalla mucosa gastrica, l'infiammazione tende a diminuire. Se l'organismo ricolonizza la mucosa, la gravità dell'infiammazione aumenta e coincide con l'insorgenza di sintomi gastrointestinali. L'assenza di sintomi gastrointestinali in presenza dell'*H. pylori* indica una colonizzazione piuttosto che un'infezione. Gli studi clinici più recenti hanno confermato che l'*H. pylori* è un agente che causa nella maggior parte dei casi gastrite cronica e ulcere. E' stato evidenziato anche che l'*H. pylori* è associato al carcinoma gastrico.

Le attuali procedure per rilevare la presenza dell'*H. pylori* si basano sull'isolamento dell'organismo ottenuto da tessuto prelevato con biopsia endoscopica. Il tessuto viene analizzato anche mediante istologia, colorazione di gram, e/o test dell'ureasi enzimatica che viene prodotta in abbondanza dall'organismo. Ognuno di questi metodi, compresa l'istologia, e la colorazione di gram, richiedono materiale bioptico prelevato da siti diversi, oltre alla necessità di effettuare una gastroscopia invasiva. Ognuno di questi metodi è, però, in qualche modo inadeguato.[6] La presenza dell'*H. pylori* è stata anche evidenziata con un test sul soffio basato sull'urea (utilizzando isotopi radioattivi o nonradioattivi) e con metodi sierologici.[14-16]

E' stata determinata una risposta sierologica positiva agli antigeni *H. pylori* in individui con duodenite, gastrite cronica, e ulcere gastriche o duodenali. Inoltre, molte persone senza sintomi clinici sono sieropositive per gli anticorpi anti-*H. pylori*, e la prevalenza aumenta con l'età. Per questo motivo, mentre la sierologia *H. pylori* rappresenta un metodo sensibile per determinare la colonizzazione, non è possibile effettuare una differenziazione tra colonizzazione e malattia attiva.

Principio del Dosaggio

IMMULITE 2000 *H. Pylori* IgG è un dosaggio immunometrico in chemiluminescenza in fase solida.

Cicli d'incubazione: 2 × 30 minuti.

Prelievo dei Campioni

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

I campioni emolizzati possono indicare un trattamento non idoneo del campione prima dell'arrivo al laboratorio; per questo motivo, 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.

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 *H. Pylori* IgG non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume Richiesto: 10 µL di siero.

Fattore Automatico di Pre-Diluizione: 20
Dispensare il volume richiesto di diluente (L2HPGZ2) all'interno di una provetta etichettata con codice a barre.

Conservazione: 3 giorni a 2–8°C o 6 mesi a –20°C.[17]

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.



ATTENZIONE! POTENZIALE PERICOLO BIOLOGICO
Contiene materiale di origine umana. Ciascuna donazione di sangue o componenti ematici umani è stata testata con metodi approvati dalla FDA per rilevare la presenza di anticorpi al virus dell'immunodeficienza umana

tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2), nonché per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e gli anticorpi al virus dell'epatite C (HCV). I risultati del test sono stati negativi (non ripetutamente reattivi). Nessun test offre assicurazione completa che questi o altri agenti infettivi siano assenti; questo materiale va trattato utilizzando le corrette prassi di laboratorio e le precauzioni universali.[21-23]

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale portatore e trasmettitore di agenti patogeni.

La sferetta è coattata con un antigene *H. pylori inattivato*. Comunque, è consigliabile essere prudenti a causa dell'eventuale presenza dell'organismo residuo durante la manipolazione e l'eliminazione dei materiali forniti.

Reagenti: Conservare i reagenti a 2–8°C. Eliminare in conformità alle leggi vigenti.

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati dal sangue umano sono stati testati con esito negativo per la sifilide, gli anticorpi anti-HIV 1 e 2, l'Antigene di Superficie dell'Epatite B e 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 unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

Contenitore di Sferette *H. Pylori* IgG (L2HPG12)
Con codici a barre. 200 biglie coattate con antigene *H. pylori* inattivato, parzialmente purificato. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KHPG2: 1 confezione
L2KHPG6: 3 confezioni

Porta Reagente *H. Pylori* IgG (L2HPGA2)
Con codici a barre. 2 reagenti. 11,5 mL di una soluzione tamponata; 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con un anticorpo monoclonale murino anti-IgG umane in un tampone. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KHPG2: 1 Porta Reagente.
L2KHPG6: 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 *H. Pylori* IgG (LHPGL, LHPGH)
Due flaconi (Basso ed Alto), ciascuno con 4 mL di siero umano con IgG reattive anti-*H. pylori*, in un tampone, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 14 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KHPG2: 1 set. **L2KHPG6:** 2 set.

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste sulle provette delle aliquote (fornite col il kit cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore).

Controlli *H. pylori* IgG (LHPGC1, LHPGC2, LHPGC3)
Tre flaconi 2 mL ciascuno (Negativo, Positivo Basso e Positivo). **LHPGC1 (Controllo Negativo):** Un flacone contenente siero umano con IgG non reattive anti-*H.pylori,* con conservanti. **LHPGC2, LHPGC3 (Controllo Positivo Basso, Controllo Positivo):** Due flaconi contenente siero umano con IgG reattive anti-*H.pylori,* con conservanti. Stabile a 2–8°C per 14 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KHPG2: 1 set. **L2KHPG6:** 2 set.

Il software IMMULITE 2000 effettua diluizioni automatiche interne dei campioni e dei controlli, e i risultati vengono inseriti

nel database CQ. Inserire i controlli come controlli.

Per i range dei controlli, fare riferimento alla metodica dei Controlli.

Prima di eseguire i calibratori ed i controlli, collocare le Etichette sulle provette delle Aliquote (fornite con il kit) in modo che i codici a barre possano essere registrati dal lettore interno di codici a barre.

Diluente dell'*H. Pylori* IgG (L2HPGZ2)
Per la diluizione interna dei campioni dei pazienti e dei controlli. 55 mL soluzione tampone concentrata e (pronta all'uso), con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KHPG2: 1 flaconi **L2KHPG6:** 1 flaconi

Vengono Fornite Le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm cosicchè i codici a barre possano essere letti dal lettore interno.
L2HPGZ2: 5 Etichette.

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)
L2ZT: 250 Provette (16 × 100 mm) per Diluente del Campione
L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluente del Campione

LHPGCM: Controllo *H. pylori* IgG a tre livelli

Materiali Richiesti
Acqua distillata o deionizzata; provette di vetro.

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per: preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione: 1 settimana.

Campioni per il Controllo di Qualità: Utilizzare i controlli forniti con il kit.

Interpretazione dei Risultati

Positivo: Un risultato maggiore o uguale a 1,1 U/mL viene considerato "positivo" ed indica che sono stati rilevati anticorpi anti-*H. pylori* IgG nel campione.

Indeterminato: Un risultato maggiore o uguale a 0,9 U/mL e minore di 1,1 U/mL, è considerato "indeterminato". I campioni Indeterminati devono essere ritestati. I campioni che continuano a fornire risultati "indeterminati" devono essere ridosati con un metodo alternativo, o deve essere prelevato un secondo campione, se possibile, entro un periodo di tempo ragionevole (ad es., una settimana).

Negativo: Un risultato inferiore a 0,9 U/mL viene considerato "negativo" ed indica che non sono stati rilevati anticorpi anti-*H. pylori* IgG nel campione. I risultati negativi con questo dosaggio non escludono un'infezione iniziale recente.

La presenza di anticorpi IgG anti-*H. pylori* è un'indicazione dell'esposizione precedente all'organismo. Un campione individuale può essere utilizzato soltanto per determinare lo stato immunitario dell'individuo.

I risultati del dosaggio IgG anti-*H. pylori* determinati per un dato campione con dosaggi di diversi produttori possono variare a causa delle differenze nei metodi utlizzati e nella specificità dei reagenti. Quindi, i risultati comunicati dal laboratorio al medico devono includere quanto segue: "i seguenti risultati sono stati ottenuti con il dosaggio IMMULITE 2000 *H. pylori* IgG EIA. I risultati ottenuti con metodi di altri produttori non possono essere interscambiati."

Valori Attesi

La maggior parte degli individui esposti all'*H. pylori* ha sviluppato anticorpi IgG. Inoltre, la presenza di anticorpi anti-*H. pylori* è in funzione dell' età, razza, collocazione geografica e stato clinico.[16] I tassi specifici legati all'età per l'infezione da *H. pylori* sono simili per maschi e femmine.

La prevalenza dell'infezione da *H. pylori* è tra il 30 ed il 40% negli Stati Uniti e nel Canada, circa del 20% in Australia, del

70% in Europe, e tra il 70 ed il 90% in Africa, Sud America ed Asia.[18]

L' H. pylori è anche stato identificato come un fattore di rischio per il cancro gastrico. Quasi il 100% dei pazienti con ulcera duodenale, l'85% di quelli con ulcera gastrica,[19] ed il 50%– 100% dei pazienti con carcinoma gastrico sono stati infettati da *H. pylori*.[20]

Una proporzione piuttosto elevata di pazienti con livelli positivi di anticorpi sono asintomatici, anche se sono stati colonizzati. Per questo motivo, i livelli degli anticorpi non correlano sempre con la gravità dei sintomi clinici.[16]

Limitiazioni

Per la determinazione della sieroconversione da *non reattivo* a *reattivo*, è necessario prelevare due campioni di siero ad un intervallo di tre – quattro settimane durante la fase acuta e la fase di convalescenza dell'infezione. Il campione della fase acuta deve essere conservato ed analizzato in parallelo con il campione della fase di convalescenza.

E' possibile che individui con un'infezione *H. pylori* acuta non presentino anticorpi IgG rilevabili nelle prime fasi dell'infezione.

I risultati in pazienti HIV positivi, in pazienti immunodepressi o in pazienti con altre malattie immunosopressive, devono essere interpretati con prudenza.

Le caratteristiche di questo dosaggio non sono ancora state stabilite per un suo utilizzo con campioni di sangue proveniente dal cordone ombelicale, da neonati, pazienti in età pediatrica o pazienti pre-trapianto.

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 tavole e grafici per dati *rappresentativi*. I risultati sono indicati in U/mL. (Se non diversamente previsto, tutti i risultati sono stati generati da campioni di siero raccolti in provette senza barriere di gel o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.).

Range di Calibrazione: 0,4 – 8,0 U/mL

Il dosaggio è standardizzato verso uno standard interno preparato usato con materiali e secondo procedure di qualità.

Sensibilità Analitica: 0,4 U/mL

Precisione: Sono stati dosati campioni in doppio in 6 giorni, due sedute al giorno, per un totale di 12 sedute e 36 replicati. (Vedi Tabella “Precision”.)

Specificità: Il dosaggio è estremamente specifico per gli anticorpi IgG anti-*H. Pylori*, senza crossreattività verso il *Campylobacter jejuni*, il *Campylobacter fetus ed* il *Campylobacter coli*. Questa conclusione è stata tratta da uno studio effettuato utilizzando il dosaggio IMMULITE *H. pylori* IgG.

Bilirubina: La presenza di bilirubina in concentrazioni fino a 200 mg/L non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Emolisi: La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 809 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.

Tipo di Campione Alternativo: Per determinare l'effetto di campioni alternativi, è stato prelevato del sangue da 20 volontari in provette semplici, eparinizzate, EDTA e Becton Dickinson vacutainer SST®. Ad ugual volumi di campioni misti sono state aggiunte varie concentrazioni di *H. Pylori* IgG per ottenere valori lungo l'intero range di

calibrazione del dosaggio e quindi dosati con il kit IMMULITE 2000 *H. Pylori* IgG.

(Eparina) = 1,06 (Siero) – 0,18 U/mL
r = 0,997

(EDTA) = 1,00 (Siero) – 0,09 U/mL
r = 0,993

(SST) = 1,00 (tubi semplici) – 0,04 U/mL
r = 0,999

Valore medio:
2,5 U/mL (Siero)
2,5 U/mL (Eparina)
2,4 U/mL (EDTA)
2,4 U/mL (SST)

I risultati indicano che i campioni di plasma eparinizzato ed EDTA producono virtualmente gli stessi risultati come per il siero nel dosaggio IMMULITE 2000 *H. pylori.*

Comparazione di Metodi: Il dosaggio è stato comparato alla diagnosi clinica in seguito a biopsia su 155 campioni selezionati in maniera random da pazienti con sospetta infezione da *H. pylori*. Un campione è considerato clinicamente positivo se il test colturale, o il CLO ed i test istologici, sono positivi. Un campione è considerato clinicamente negativo se nessuno dei test derivati dalla biopsia si è rivelato positivo.

	IMMULITE 2000				
Diagnosi Clinica	Pos	Ind	Neg	Sensibilità	Specificità
Pos	65	2	2	97,0%	100%
Neg	0	2	84		

Correlazione: 98,7%
Limite di Confidenza Centrale al 95% rispettivamente per Sensitività e Specificità,: 89,6% – 99,6% e 95,7% – 100%.

Il dosaggio è stato comparato al dosaggio IMMULITE *H. pylori* IgG (LKHEQ) in 197 campioni di pazienti. (Range di concentrazione: da 0,4 a 7,0 U/mL circa. Vedi grafico.) Mediante regressione lineare:

(IML 2000) = 0,96 (IML) + 0,05 U/mL
r = 0,992

Valore Medio:
2,19 U/mL (IMMULITE 2000)
2,23 U/mL (IMMULITE)

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore Nazionale.

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

H. Pylori IgG

Utilização: Para uso no diagnóstico *in vitro* com os Analisadores dos Sistemas IMMULITE 2000 — para o doseamento qualitativo de anticorpos IgG para o *Helicobacter pylori*, no soro ou plasma humano de adultos assintomáticos como auxiliar do diagnóstico da infecção por *Helicobacter pylori*.

Números de catálogo: **L2KHPG2** (200 testes), **L2KHPG6** (600 testes)

Código do teste: **HPG**.
Cor: **Verde escuro**

Sumário e explicação do teste

Em 1983, Warren e Marshall descreveram um bacilo curvo associado com a mucosa gástrica em casos de gastrite crónica, que tentaram comparar com o *Campylobacter*. Mais recentemente, investigadores têm demonstrado uma correlação entre a colonização com este organismo (agora denominado *Helicobacter pylori*) e úlceras gástricas e duodenais e gastrite crónica. A colonização de *H. Pylori* é crónica por natureza e aparenta causar inflamações histológicas na mucosa gástrica. Quando o *Helicobacter pylori* é eliminado da mucosa gástrica, a inflamação tende a diminuir. Se o organismo recoloniza, a inflamação aumenta em severidade e coincide com o surgimento de sintomas gastrointestinais. A falta de sintomas gastrointestinais na presença de *H. pylori* indica colonização em vez de infecção. Os ensaios clínicos mais recentes confirmaram que o *H. pylori* é o agente responsável pela maioria dos casos de gastrites e úlceras crónicas. Foram apresentadas provas de que o *H. pylori* está também associado com o carcinoma gástrico.

Actualmente pode detectar-se o *H. pylori* isolando o organismo do tecido obtido por biópsia endoscópica. O tecido é também testado por histologia, coloração do Gram, e/ou teste enzimático da urease, que é

produzida pela abundância do organismo. Cada um dos métodos, incluindo o de coloração do Gram e histológico, requer que materiais de biopsia sejam extraídos de vários locais. Além da necessidade de realizar uma gastroscopia invasiva, cada um desses métodos sofre de outras insuficiências.[6] A presença de *H. pylori* tem sido também detectado com o teste respiratório da ureia (usando isótopos radioactivos ou não radioactivos) e por métodos serológicos.[14-16]

Uma resposta sorológica positiva (para antigénios do *H. pylori* tem sido determinada em indivíduos com duodenite gastrite crónica e úlcera gástrica ou duodenal. Além do mais, muitas pessoas sem sintomas clínicos são seropositivas para anticorpos *H. pylori*, aumentando a prevalência com a idade. Portanto, embora a serologia de *H. pylori* seja um método sensível para determinar a colonização, a diferenciação entre a colonização e a doença activa não é possível.

Princípio do procedimento

A *H. Pylori* IgG IMMULITE 2000 é um ensaio imunométrico em fase sólida quimioluminescente.

Ciclos de incubação: 2 × 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 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 aquelas de doentes recebendo terapia anticoagulante podem requerer um tempo de formação do coágulo aumentado.

Os tubos para colheita sanguínea de diferentes fabricantes, podem originar diferentes valores, dependendo dos materiais e aditivos, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 *H. Pylori* IgG não foram ainda testados com todas as possiveis 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: 10 µL de soro.

Factor de pré-diluição automática: 20
Dispense o volume de diluente (L2HPGZ2) necessário para tubo de ensaio apropriados, com código de barras.

Estabilidade: 3 dias a 2–8°C, ou 6 meses a –20°C.[17]

Precauções

Para uso de diagnóstico in vitro.

PRECAUÇÃO! POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO
Contém material de origem humana. Cada dádiva de sangue ou componente de sangue humano foi testada pelos métodos aprovados pela FDA quanto à presença de anticorpos dos vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e tipo 2 (VIH-2), bem como do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e dos anticorpos do vírus da hepatite C (VHC). Os resultados dos testes foram negativos (não repetidamente reativos). Nenhum teste oferece total garantia de que estes ou outros agentes infeciosos estejam ausentes; este material deve ser manuseado de acordo com as boas práticas laboratoriais e precauções universais.[21-23]

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.

A esfera está revestida com antigénio de *H. pylori* inactivado. Contudo, deve-se ter cuidado ao trabalhar, ou rejeitar os materiais que são fornecidos, devido à possível presença residual do organismo.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as normas aplicadas.

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; ao eliminar, dilua com grande volume de água para evitar a acumulação de azidas metálicas, explosivas, na canalização.

Substrato quimioluminescente: Evite contaminação e exposição directa à luz (ver bula).

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 *H. Pylori* IgG (L2HPG12)
Com código de barras. 200 pérolas revestidas com antigénio de *H. pylori* parcialmente purificado, inactivo. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KHPG2: 1 embalagem.
L2KHPG6: 3 embalagens.

Embalagem de reagente de *H. Pylori* IgG (L2HPGA2)
Com código de barras. 2 reagentes. 11,5 mL de uma solução tampão. 11,5 mL de fosfatase alcalina (intestino de bezerro) conjugada com anticorpo monoclonal IgG anti-humano de murino tamponizada. Estável até à data de validade a 2–8°C.
L2KHPG2: 1 embalagem.
L2KHPG6: 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 *H. Pylori* IgG (LHPGL, LHPGH)
Dois frascos (nível alto e baixo) cada um contendo 4 mL de soro humano com IgG reactivo a *H. pylori*, tamponizado, com conservante. Estável, após a abertura, durante 14 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KHPG2: 1 conjunto.
L2KHPG6: 2 conjuntos.

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas apropriadas (fornecidas com o "kit") em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Controlos de *H. pylori* IgG (LHPGC1, LHPGC2, LHPGC3)
3 frascos (Controlo Negativo, Controlo Positivo Baixo e Controlo Positivo), 2 mL cada. **LHPGC1 (Controlo Negativo):** Um frasco contendo soro humano com IgG não reactivo a *H. pylori*, com conservante. **LHPGC2, LHPGC3 (Controlo Positivo Baixo, Controlo Positivo):** Dois frascos contendo soro humano com IgG reactivo a *H. pylori*, com conservante. Estável, após a abertura, durante 14 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KHPG2: 1 conjunto.
L2KHPG6: 2 conjuntos.

O software do IMMULITE 2000 permite a auto-diluição de amostras de controlo, e os resultados serão localizados na base de dados do CQ. Introduzir os controlos como controlos.

Para os valores actuais de controlo, consulte o folheto incluso de Controlo.

Antes de utilizar qualquer ajuste ou controlo, coloque as etiquetas apropriadas (fornecidas com o "kit") em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Diluente de amostra para *H. Pylori* IgG (L2HPGZ2)
Para a diluição no aparelho de amostras de doentes e controles. 55 mL concentrado (pronto a usar), uma solução tampão, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KHPG2: 1 frasco
L2KHPG6: 1 frasco

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2HPGZ2: 5 etiquetas.

Componentes do kit fornecidos separadamente

L2SUBM: Substrato quiomioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Kit de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)
L2ZT: 250 Tubos de diluente da amostra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

LHPGCM: Módulo de Controlo de *H. pylori* IgG de três níveis

Também necessário
Água destilada ou desionizada; tubos de amostra.

Procedimento de doseamento

Ter em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000.

Consultar o Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000 relativamente aos procedimentos de preparação, diluição, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes: 1 semana.

Amostras de controlo de qualidade: Utilize os controlos fornecidos com o kit.

Interpretação dos resultados

Positivo: Um resultado superior ou igual a 1,1 U/mL é considerado “positivo” e indica que os anticorpos IgG de *H. pylori* foram detectados na amostra.

Indeterminado: Um resultado maior ou igual a 0,9 U/mL e menor que 1,1 U/mL, é considerado "indeterminado". Amostras indeterminadas devem ser repetidas. As amostras que se mantenham "indeterminadas" devem ser examinadas por um método alternativo, ou deve colher-se uma segunda amostra, se possivel, num período de tempo razoável (p.e., uma semana).

Negativo: Um resultado inferior a 0,9 U/mL é considerado “negativo”, e indica que anticorpos IgG de H. pylori não foram detectados na amostra. Resultados negativos por este teste não excluem uma infecção primária recente.

A presença de anticorpos IgG para H. pylori é uma indicação da exposição anterior ao organismo. Deve ser usado uma única amostra para determinar o estado imune do indivíduo.

Os resultados determinados para uma amostra com doseamentos de diferentes fabricantes podem variar devido à diferença nos métodos de doseamento e especificidade do reagente. Os resultados enviados pelo laboratório ao médico devem incluir: “Os seguintes resultados foram obtidos com o doseamento de IMMULITE 2000 *H. pylori* IgG. Os resultados obtidos por métodos de doseamentos de outros fabricantes não podem ser comparados"

Valores de Referência

A maioria dos indivíduos expostos ao *H. pylori* possui anticorpos IgG para o organismo. Além disso, a presença de anticorpos *H. pylori* é uma função da idade, raça, geografia e condição clínica.[16] As taxas específicas por idade para infecção por *H. pylori* são semelhantes para homens e mulheres.

A prevalença da infecção por *H. pylori* está entre 30 e 40% nos US e Canadá, cerca de 20% na Austrália, 70% na Europa, e entre 70 e 90% em África, América do Sul e Ásia.[18]

O H. pylori é também identificado como factor de risco para o cancro gástrico.Cerca de 100% dos doentes com úlcera duodenal, 85% com úlcera gastrica,[19] e 50 – 100% dos doentes com cancro gástrico estão infectados com *H. pylori*.[20]

Uma proporção relativamente grande de doentes que possuem níveis positivos de anticorpos são assintomáticos, mesmo se eles são colonizados com o *H. pylori*. Portanto, os níveis de anticorpos não se correlacionam necessáriamente com a severidade dos sintomas clínicos.[16]

Limitações

Para a determinação da seroconversão, duas amostras de soro devem ser colhidas com 3 ou 4 semanas de diferença durante as fases aguda e de convalescença da infecção. A amostra da fase aguda deve ser armazenada e testada em paralelo com a amostra da fase de convalescença.

Indivíduos com uma infecção aguda por *H. pylori* podem não apresentar nenhum anticorpo IgG detectável na fase inicial da infecção.

Os resultados em doentes de HIV, em doentes com terapia imunossupressora, ou com outras doenças que levem à imunossupressão, devem ser interpretados com cuidado.

As características do desempenho deste doseamento não foram estabelecidas para uso com amostras neonatais, sangue do cordão, ou doentes de pré-transplante.

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 apresentados em U/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.)

Calibração: 0,4 – 8,0 U/mL

O ensaio é monotorizado com padrão interno feito com materiais qualificados e procedimentos de medição.

Sensibilidade Analítica: 0,4 U/mL

Precisão: As amostras foram doseadas em duplicado durante 6 dias, 2 ensaios por dia, perfazendo um total de 12 ensaios e 36 réplicas. (Ver a tabela de "Precision".)

Especificidade: O doseamento é específico para anticorpos para o *H. Pylori* IgG, não se observando reacções cruzadas com *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter fetus* e *Campylobacter coli*. Estas conclusões foram retiradas de um estudo feito com o IMMULITE *H. pylori* IgG.

Bilirrubina: A presença de bilirrubina em concentrações até 200 mg/L não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Hemolise: A presença de hemoglobina em concentrações até 809 mg/dL não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipémia: A presença de trigliceridos em concentrações até 3 000 mg/dL não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Tipo de amostra alternativa: Para determinar o efeito de amostras alternatives, foi colhido sangue de 20 voluntários em tubos secos, com EDTA, heparinizados e tubos de vacum SST® da Becton Dickinson. A volumes iguais das mesmas amostras foram adicionadas várias concentrações de *H. Pylori* IgG para obter valores ao longo da gama de calibração do ensaio. As amostras foram doseadas com o IMMULITE 2000 *H. Pylori* IgG.

(Heparina) = 1,06 (Soro) – 0,18 U/mL
r = 0,997

(EDTA) = 1,00 (Soro) – 0,09 U/mL
r = 0,993

(SST) = 1,00 (tubos simples) – 0,04 U/mL
r = 0,999

Médias:
2,5 U/mL (Soro)
2,5 U/mL (Heparina)
2,4 U/mL (EDTA)
2,4 U/mL (SST)

Os resultados mostram que o plasma heparinizado e com EDTA geram

virtualmente os mesmos resultados que o soro no procedimento *H. Pylori* IMMULITE 2000.

Comparação de métodos: O ensaio foi comparado com 155 amostras com diagnóstico clinico por biópsia, seleccionadas ao acaso retrospectivamente de doentes com suspeita de infecção por *H. pylori*. A amostra foi considerada clinicamente positiva se a cultura, ou tanto o CLO e os testes histologicos, forem positivos. A amostra foi considerada clinicamente negativa se nenhum dos testes da biópsia for positivo.

IMMULITE 2000

Diagnostico Clinico	Pos	Ind	Neg	Sensibilidade	Especificidade
Pos	65	2	2	97,0%	100%
Neg	0	2	84		

Concordância: 98,7%
95% Limites de Confidencia para Sensibilidade e Especificidade, respectivamente: 89,6% – 99,6% and 95,7% – 100%.

O doseamento foi comparado ao *H. pylori* IgG IMMULITE (LKHEQ) em 197 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 0,4 a 7,0 U/mL. Consulte o gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 0,96 (IML) + 0,05 U/mL
r = 0,992

Médias:
2,19 U/mL (IMMULITE 2000)
2,23 U/mL (IMMULITE)

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE® is a trademark of Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2009 Siemens Healthcare Diagnostics. All rights reserved.

Origin: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

CE

2018-03-15

PIL2KHPG – 23

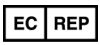
cc#EU23262, cc#EU23262A

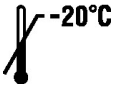
Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol	Definition
IVD	**En:** In vitro diagnostic medical device **De:** Medizinisches Gerät zur In-vitro Diagnose **Es:** Dispositivo médico para diagnóstico in vitro **Fr:** Dispositif médical de diagnostic in vitro **It:** Dispositivo medico per diagnostica in vitro **Pt:** Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
REF	**En:** Catalog Number **De:** Katalognummer **Es:** Número de referencia **Fr:** Numéro de référence catalogue **It:** Codice catalogo **Pt:** Número de catálogo

Symbol	Definition
	**En:** Manufacturer **De:** Hersteller **Es:** Fabricante **Fr:** Fabricant **It:** Produttore **Pt:** Fabricante
	**En:** Authorized Representative in the European Community **De:** Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union **Es:** Representante autorizado en la Unión Europea **Fr:** Représentant agréé pour l'Union européenne **It:** Rappresentante autorizzato nella Comunità europea **Pt:** Representante Autorizado na Comunidade Europeia
	**En:** CE Mark **De:** CE-Kennzeichen **Es:** Marca CE **Fr:** Marque CE **It:** Marchio CE **Pt:** Marca CE
	**En:** CE Mark with identification number of notified body **De:** CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle **Es:** Marca CE con número de identificación del organismo notificado **Fr:** Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié **It:** Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato **Pt:** Marca CE, com número de identificação do organismo notificado
	**En:** Consult instructions for use **De:** Bedienungshinweise beachten **Es:** Consulte las instrucciones de uso **Fr:** Consulter le mode d'emploi **It:** Consultare le istruzioni per l'uso **Pt:** Consulte as instruções de utilização

Symbol	Definition
	**En:** Caution! Potential Biohazard **De:** Vorsicht! Biologisches Risikomaterial **Es:** ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial **Fr:** Avertissement ! Risque biologique potentiel **It:** Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico **Pt:** Atenção! Potenciais Riscos Biológicos
	**En:** Temperature limitation (2–8°C) **De:** Temperaturgrenze (2–8°C) **Es:** Limitación de temperatura (2–8°C) **Fr:** Limites de température (2–8°C) **It:** Limiti di temperatura (2–8°C) **Pt:** Limites de temperatura (2–8°C)
	**En:** Upper limit of temperature (≤ -20°C) **De:** Obere Temperaturgrenze (≤ -20°C) **Es:** Límite superior de temperatura (≤ -20°C) **Fr:** Limite supérieure de température (≤ -20°C) **It:** Limite superiore di temperatura (≤ -20°C) **Pt:** Limite máximo de temperatura (≤ -20°C)
	**En:** Lower limit of temperature (≥2°C) **De:** Mindesttemperatur (≥2°C) **Es:** Límite inferior de temperatura (≥2°C) **Fr:** Limite inférieure de température (≥2°C) **It:** Limite inferiore di temperatura (□≥2°C) **Pt:** Limite mínimo de temperatura (≥2°C)
	**En:** Do not freeze (> 0°C) **De:** Nicht einfrieren (> 0°C) **Es:** No congelar (> 0°C) **Fr:** Ne pas congeler (> 0°C) **It:** Non congelare (> 0°C) **Pt:** Não congelar (> 0°C)
	**En:** Do not reuse **De:** Nicht zur Wiederverwendung **Es:** No reutilizar **Fr:** Ne pas réutiliser **It:** Non riutilizzare **Pt:** Não reutilizar

Symbol	Definition
	**En:** Keep away from sunlight **De:** Vor Sonneneinstrahlung schützen **Es:** Proteger de la luz solar **Fr:** Maintenir hors de portée de la lumière du soleil **It:** Non esporre alla luce del sole **Pt:** Manter afastado da luz solar
LOT	**En:** Batch code **De:** Chargenbezeichnung **Es:** Número de lote **Fr:** Numéro de code du lot **It:** Codice lotto **Pt:** Código de lote
	**En:** Contains sufficient for (n) tests **De:** Es reicht für (n) Tests **Es:** Contiene suficiente para (n) pruebas **Fr:** Contient du matériel suffisant pour (n) tests **It:** Contiene materiale sufficiente per (n) test **Pt:** Contém o suficiente para (n) testes
2008-01	**En:** Date format (year-month) **De:** Datumsformat (Jahr-Monat) **Es:** Formato de fecha (año-mes) **Fr:** Format de la date (année-mois) **It:** Formato data (anno-mese) **Pt:** Formato de data (ano-mês)
	**En:** Use by **De:** Verwendbar bis **Es:** Fecha de caducidad **Fr:** A utiliser avant **It:** Usare entro **Pt:** Usar até
	**En:** Health Hazard **De:** Gesundheitsgefährdung **Es:** Peligro para la salud **Fr:** Dangereux pour la santé **It:** Pericolo per la salute **Pt:** Perigo para a saúde
	**En:** Exclamation Mark **De:** Ausrufezeichen **Es:** Signo de exclamación **Fr:** Point d'exclamation **It:** Punto esclamativo **Pt:** Ponto de exclamação
	**En:** Corrosion **De:** Korrosion **Es:** Corrosión **Fr:** Corrosion **It:** Corrosione **Pt:** Corrosão

Symbol	Definition
	**En:** Skull and Crossbones **De:** Totenkopf mit gekreuzten Knochen **Es:** Calavera y tibias cruzadas **Fr:** Tête de mort sur tibias croisés **It:** Teschio e tibie incrociate **Pt:** Caveira sobre tíbias cruzadas
	**En:** Environment **De:** Umwelt **Es:** Medio ambiente **Fr:** Environnement **It:** Ambiente **Pt:** Ambiente
BEAD PACK	**En:** Bead Pack **De:** Kugel-Container **Es:** Cartucho de bolas **Fr:** Cartouche de billes **It:** Contenitore di biglie **Pt:** Embalagem de esferas
TEST UNIT	**En:** Test Unit **De:** Testeinheit **Es:** Unidades de análisis **Fr:** Unité de test **It:** Test Unit **Pt:** Unidades de Teste
REAG WEDGE REAG WEDGE A REAG WEDGE B REAG WEDGE D	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto

Symbol	Definition
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL CONTROL 1 CONTROL 2 CONTROL 3	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo

Symbol	Definition
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

HBsAg

For the Qualitative Detection of Hepatitis B Surface Antigen in Human Serum

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 HBsAg

English

Intended Use For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the qualitative detection of *hepatitis B surface antigen* (HBsAg) in human serum or plasma (heparinized, sodium citrate or EDTA), as an aid in the determination of acute and chronic hepatitis B virus infections.

Catalog Number: **L2KHB2** (200 tests)

Test Code: **HBS** Color: **Orange**

Summary and Explanation

Hepatitis B virus (HBV) is the sole human pathogen in the family of hepatitis-associated DNA viruses, and is found world-wide. Distribution of HBV infection will vary among geographical areas and population groups. Transmission of the virus is due to parenteral contact, through the exchange of blood or blood products, sexual contact, and perinatal spread from mother to newborn.[1,2] Clinical manifestations range from mild asymptomatic infections to severe fulminant hepatitis.[1,2,3] Over 90% of infected adults will have an acute self-limiting infection,[1] with jaundice and abnormal liver function. Recovery occurs without any chronic sequelae.[1,2]

Chronic liver disease, a condition in which infection persists for more than six months, a known sequela of a hepatitis B infection, is usually progressive.[1,2] The risk of developing the chronic carrier state is more likely to follow infection acquired in childhood than as an adult.[4,5] In chronic HBV carriers, there is no evidence of continued hepatic damage,[1,2] however, the infection persists and the carrier maintains the ability to transmit the virus.[2]

Availability of recombinant HBV vaccines, and the recommendation of universal immunization for infants and other high-risk persons has aided in the prevention of HBV infections. In addition, treatment with alpha-interferon to relieve symptoms is available. Results have shown positive response to treatment in 40–50% of selected individuals with chronic active hepatitis B.[4,5]

Classification of a hepatitis B infection requires the identification of several serological markers expressed during three phases (incubation, acute and convalescent) of the infection. The first marker to appear in serum is hepatitis B surface antigen (HBsAg). Presence of this antigen indicates an ongoing infection with HBV, and is detectable in the acutely ill and in chronic carriers.[1,2,4]

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 HBsAg is a solid-phase, two-step chemiluminescent enzyme immunoassay. The solid phase, a polystyrene bead enclosed within a Reaction Tube, is coated with an antibody directed against the hepatitis B surface antigen (anti-HBs).

The patient specimen is added to the Reaction Tube containing a coated bead. An alkaline phosphatase-labeled anti-HBs antibody is also added to the Reaction Tube. After the wash and incubation steps, chemiluminescent substrate undergoes hydrolysis in the presence of alkaline phosphatase. The photon output, as measured by the luminometer, is related to the presence of HBsAg in the sample.

Incubation Cycles: 2 × 30 minutes
Time to First Result: 65 minutes

Specimen Collection

Lipemia may interfere with the assay. 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 HBsAg 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: 100 µL serum or plasma (heparinized, sodium citrate or EDTA).

Storage: 2 days at room temperature (15–28°C).[8]
3 days at 2–8°C.[6,8]
For longer storage: at –20°C.[7]

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.



CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD
Contains human source material. Each donation of human blood or blood component was tested by FDA-approved methods for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) as well as for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis C virus (HCV). The test results were negative (not repeatedly reactive). No test offers complete assurance that these or other infectious agents are absent; this material should be handled using good laboratory practices and universal precautions.[8-10]

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.

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.

The HBsAg Adjustor, HBsAg Low Positive and HBsAg Positive Controls contain HBsAg which has been inactivated by proven, documented methods. However, always handle all controls as if capable of transmitting infectious agents.

The HBsAg results determined for a given specimen with assays from different manufacturers can vary due to differences in assay methods and reagent specificity. Therefore, the results reported by the laboratory to the physician should include: “The following results were obtained with the IMMULITE 2000 HBsAG EIA. Results obtained from other manufacturers' assay methods may not be used interchangeably.”

Chemiluminescent Substrate: Avoid contamination and exposure to direct sunlight. (See insert.)

Water: Use distilled or deionized water.

Materials Supplied

Components are a matched set. The barcode labels are needed for the assay.

HBsAg Bead Pack (L2HB12)
With barcode. 200 beads coated with murine monoclonal anti-HBs. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KHB2: 1 pack

HBsAg Reagent Wedge (L2HBA2)
With barcodes. 11.5 mL of a protein-based buffer, with preservative. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to polyclonal goat anti-HBs in buffer, with preservative. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KHB2: 1 wedge

Before use, tear off the top of the label at the perforations without damaging the barcode on the main label. Remove the foil seal from the top of the Reagent Wedge, and snap the sliding cover down into the ramps on the reagent lid.

HBsAg Adjustor (LHBR)
4 mL containing human serum with inactivated HBsAg, with preservative. The Adjustor serves as the assay's Cutoff. Stable at 2–8°C for 14 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KHB2: 1 vial

HBsAg Controls (LHBC1, LHBC2, LHBC3)
Three vials (Negative, Low Positive and Positive) containing 8 mL each. **LHBC1 (Negative Control):** human serum without HBsAg, with preservative. **LHBC2, LHBC3 (Low Positive Control, Positive Control):** human serum with inactivated HBsAg, with preservative. Stable at 2–8°C for 14 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KHB2: 1 set

For the current control ratio ranges, please refer to the Control insert.

Aliquot Labels with barcodes are supplied with the kit, for use with the Adjustor and Controls. Before use, place the appropriate Aliquot Labels on standard test tubes, so the barcodes can be read by the barcode reader on the IMMULITE 2000.

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 Systems Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual for preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Adjustment Interval: 4 weeks

Quality Control Samples: The control(s) supplied with the kit should be used as quality control material to monitor the performance of the assay.

For the current control ratio ranges, please refer to the Control insert.

Calculation of Cutoff and S/CO Ratio:
The Master Cutoff of the assay was determined from representative samples to achieve optimal sensitivity and specificity for the assay.

The cutoff is set equal to the average counts per second (mean cps) of the Adjustor (from the most recent adjustment) multiplied by Curve Parameter 1. (See the “Low Adjustor CPS” and “Curve Parameter 1” fields in the IMMULITE 2000 Kit Information screen, which can be accessed from the menu via Data Entry: Kit Entry.)

Calculation of a signal/cutoff (s/co) ratio is done by using the following formula:

$$\text{S/CO Ratio} = \frac{\text{Sample or Control cps}}{\text{Mean Adjustor cps} \times \text{P1}}$$

Calculation and reporting of qualitative (reactive/nonreactive) and s/co ratio results are handled automatically by the IMMULITE 2000.

The result is “Reactive” if the sample's counts are above the cutoff, and “Nonreactive” if below the cutoff.

Interpretation of Results

- A result of **“Reactive”** (ratio of ≥ 1.0) indicates that HBsAg is present and was detected in the patient sample. Specimens found to be initially reactive for HBsAg should be reassayed in duplicate to verify that the initially reactive result is repeatable.

  If at least two of three result ratios are ≥ 100 for an individual sample, the patient sample may be reported as reactive and does not require testing with the IMMULITE 2000 HBsAg Confirmatory Assay (L2KCH).

  If at least two of three result ratios are reactive, with ratios < 100, the patient sample must be tested using the IMMULITE 2000 HBsAg Confirmatory Assay (L2KCH), a procedure to confirm the presence of HBsAg based on the neutralization of HBsAg-reactive samples with anti-HBs. Those samples with initial and repeated ratios ≥ 1.0 and < 100,

in which the HBsAg is neutralized by the confirmatory test procedure, are considered confirmed reactive for HBsAg. It is essential that results be confirmed before patients are informed of the test results.

If neither of the duplicates of the reassayed sample is reactive, the patient sample should be considered nonreactive for HBsAg.

- A result of **"Nonreactive"** (ratio of < 1.0) indicates that HBsAg is not present and was not detected in the patient sample.
- When HBsAg is used as a stand-alone assay for screening pregnant women to identify neonates who are at risk for acquiring HBV during the perinatal period, supplemental testing such as the IMMULITE 2000 HBsAg Confirmatory Kit must be used to confirm the result regardless of whether the reactive ratio results are above or below 100.
- Since all highly sensitive immunoassays may produce false reactive results in rare cases, it is essential that results be confirmed before patients are informed of the test results.

The results reported by the laboratory to the physician should include: "The following results were obtained with the IMMULITE 2000 HBsAg EIA. Results obtained from other manufacturers' assay methods may not be used interchangeably."

Expected Values

Individuals acutely infected with the hepatitis B virus will exhibit a rapid rise and decline of detectable levels of HBsAg between one and four months after exposure; usually through the course of the clinical illness. Of acutely infected adults, 5–10% will become chronic carriers of the virus.[1,4] In chronic carriers, no significant decrease in HBsAg level is observed.

Limitations

The results of the test must be taken within the context of the patient's clinical history, symptomology and other laboratory findings.

Lipemic, hemolyzed or grossly contaminated samples may give erroneous results.

A nonreactive result does not indicate that the patient was not infected with HBV. The patient sample should be tested for the presence of other serological markers.

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 as a signal-to-cutoff ratio. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

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.)

Bilirubin: Presence of bilirubin in concentrations up to 400 mg/L has no effect on results, within the precision of the assay.

Hemolysis: Hemolysis may cause a shift in values. (See "Hemolysis" table.)

Lipemia: Lipemia may cause a shift in values. (See "Lipemia" table.)

Alternate Sample Type: Samples (n = 60) were collected into plain, heparinized, sodium citrate and EDTA vacutainer tubes. 41 samples were spiked with HBsAg and all samples were then assayed by the IMMULITE 2000 HBsAg

procedure. Results are expressed as a signal-to-cutoff ratio.

(Heparin) = 0.99 (Serum) + 1.93
r = 1.00

(NaCitrate) = 0.96 (Serum) + 0.83
r = 1.00

(EDTA) = 0.98 (Serum) + 1.52
r = 1.00

Means:
219 (Serum)
218 (Heparin)
211 (NaCitrate)
216 (EDTA)

Method Comparison 1: The IMMULITE 2000 HBsAg procedure was compared to the Abbott AUSZYME® MONOCLONAL, a commercially available enzyme immunoassay for HBsAg, on 231 patient samples.

	IML 2000			
Abbott	React.	Non-react.	Relative Sensitivity	Relative Specificity
Reactive	16	0		
Non-reactive	3	212	100%	99%

Agreement: 99%

Method Comparison 2: The IMMULITE 2000 HBsAg procedure was compared to the Elecsys HBsAg immunoassay on 2438 samples, consisting of seroconversion panels, potentially cross-reactive samples, samples from patients with acute and chronic HBV infection, from blood donors, hospitalized patients, and routine samples. The table below presents the results of this study.

	No. of samples					
	HBsAg reactive	HBsAg non-reactive	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
IMMULITE 2000 HBsAg						
Reactive	238	0				
Non-reactive	16	2184	93.7%	100%	100%	99.3%
Elecsys HBsAg						
Reactive	254	0				
Non-reactive	0	2184	100%	100%	100%	100%

Method Comparison 3: The IMMULITE 2000 HBsAg procedure was compared to the AxSYM HBsAg immunoassay on 438 samples, consisting of seroconversion panels and samples from patients with chronic HBV infection. The table below presents the results of this study.

IMMULITE 2000	Reac.	Reac.	Non-reac.	Non-reac.	
AxSYM	Reac.	Non-reac.	Reac.	Non-reac.	Agreement
Seroconversion (n = 340)	148	3	7	182	97.1%
Chronic HBV infection (n = 98)	98	0	0	0	100%
Total (n = 438)	246	3	7	182	97.7%

References

1) Locarnini SA, Gust ID. Hepadnaviridae: hepatitis B virus and the delta virus. In: Balows A, et al, editors. Laboratory diagnosis of infectious diseases: principles and practices. New York: Springer-Verlag, 1988: 750-96. 2) Follett EAC. Diagnosis of hepatitis B infection. In: Young H, McMillan A, editors. Immunological diagnosis of sexually transmitted diseases. New York: Marcel Dekker, 1988: 433-49. 3) Hollinger FB, Dienstag JL. Hepatitis B and D viruses. In: Lennette EH, et al, editors. Manual of clinical microbiology. 6th ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1995: 1033-49. 4) Nowicki MJ, Balistreri WF. Hepatitis A to E: building up the alphabet. Contemporary Peds 1992: 118-28. 5) Zuckerman AJ, et al. Hepatitis B virus and hepatitis D virus. In: Principles and practice of clinical virology. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 1992: 153-72. 6) Tietz NW, editor. Clinical guide to laboratory tests. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1995:354-60. 7) Tietz NW, editor. Clinical guide to laboratory tests. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1995:322-4. 8) Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. MMWR, 1988;37:377–82, 387–8. 9) Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3. 10) Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030.

Technical Assistance

Available outside the United States only. For technical assistance, contact your National Distributor.

siemens.com/healthcare

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

Precision (ratio)

		Intraassay[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	0.48	0.045	9.5%	0.057	11.9%
2	0.48	0.049	10.4%	0.063	13.3%
3	1.17	0.074	6.3%	0.102	8.7%
4	1.19	0.063	5.3%	0.156	13.2%
5	1.49	0.081	5.4%	0.163	11.0%
6	2.81	0.138	4.9%	0.267	9.5%

Hemolysis (ratio)

	Hemoglobin					
	168 mg/dL		252 mg/dL		504 mg/dL	
	Exp[1]	Obs[2]	Exp	Obs	Exp	Obs
1	0.50	0.59	0.50	0.76	0.49	0.95
2	0.57	0.77	0.57	0.79	0.56	1.11
3	0.93	1.03	0.93	0.99	0.91	1.12
4	1.71	1.89	1.70	1.95	1.68	1.92
5	3.18	3.26	3.16	3.18	3.11	3.18
6	33.1	29.5	32.9	27.5	32.4	27.1

Lipemia (ratio)

	Triglycerides Added[1] mg/dL	Observed[2]	Expected[3]	%O/E
1	—	0.51	—	—
	500	0.56	0.49	114%
	1000	0.51	0.48	107%
	2000	0.51	0.45	112%
	3000	0.51	0.43	119%
2	—	0.58	—	—
	500	0.69	0.57	121%
	1000	0.71	0.55	128%
	2000	0.69	0.53	131%
	3000	0.62	0.50	125%
3	—	1.73	—	—
	500	1.73	1.68	103%
	1000	1.75	1.64	107%
	2000	1.68	1.55	108%
	3000	1.73	1.47	118%
4	—	0.94	—	—
	500	0.99	0.91	109%
	1000	0.92	0.88	104%
	2000	0.92	0.84	110%
	3000	0.92	0.79	117%
5	—	3.21	—	—
	500	3.17	3.13	101%
	1000	3.16	3.05	104%
	2000	3.06	2.89	106%
	3000	3.01	2.73	110%
6	—	33.4	—	—
	500	30.0	32.56	92%
	1000	31.3	31.73	99%
	2000	26.8	30.06	89%
	3000	26.9	28.39	95%

Deutsch. **Precision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]S (Standardabweichung), [5]CV (Variationskoeffizient). **Hemolysis:** [1]Erwarten, [2]Beobachten. **Lipemia:** [1]zugesetzte Menge, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E).

Español. **Precision**: [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV. **Hemolysis:** [1]Esperado, [2]Observado. **Lipemia:** [1]Cantidad añadida, [2]Observado (O), [3]Esperado (E).

Français. **Precision**: [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]SD, [5]CV. **Hemolysis:** [1]Attendu. [2]Observé. **Lipemia :** [1]ajouté, [2]Observé (O), [3]Attendu (A).

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione). **Hemolysis:** [1]Atteso, [2]Osservato. **Lipemia:** [1]quantità aggiunta, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A).

Português. **Precision**: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação. **Hemolysis:** [1]Esperado, [2]Observado. **Lipemia:** [1]quantità aggiunta, [2]Observado (O), [3]Esperado (E).

Deutsch

HBsAg IMMULITE 2000

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme — zur qualitativen Bestimmung des *Hepatitis-B-Oberflächenantigens* (HBsAg) in Humanserum bzw. plasma (Heparin, Na-Citrat oder EDTA) als Hilfestellung zur Ermittlung von akuten und chronischen Infektionen mit dem Hepatitis-B-Virus.

Artikelnummern: **L2KHB2** (200 Tests)

Testcode: **HBS** Farbe: **orange**

Klinische Relevanz

Das Hepatitis-B-Virus (HBV) ist weltweit anzutreffen. Es ist das einzige Hepatitis-assoziierte DNS-Virus, das den Menschen infiziert. Die Verteilung der HBV-Infektionen variiert nach geografischen Regionen und Bevölkerungsgruppen. Übertragen wird das Virus durch parenteralen Kontakt, den Austausch von Blut bzw. Blutprodukten, sexuellen Kontakt und perinatale Übertragung von der Mutter auf das Neugeborene.[1,2] Die klinischen Manifestationen reichen von leichten beschwerdefreien Infektionen bis hin zu schwerer fulminanter Hepatitis.[1,2,3] Mehr als 90% aller infizierten Erwachsenen erkranken an einer akuten ausheilenden Infektion[1] mit Gelbsucht und Leberfunktionsstörungen. Diese Patienten erholen sich ohne chronische Folgekrankheiten.[1,2]

Chronische Lebererkrankungen, bei denen die Infektion mehr als sechs Monate lang anhält, sind eine bekannte und üblicherweise progrediente Folgeerscheinung von Hepatitis-B-Infektionen.[1,2] Das Risiko, zu einem chronischen Träger zu werden, ist nach Infektionen im Kindesalter höher als bei Erwachsenen.[4,5] Chronische HBV-Träger zeigen keine fortwährenden Leberschäden[1,2], die Infektion ist jedoch präsent und eine Übertragung des Virus möglich.[2]

Durch die Verfügbarkeit von rekombinanten HBV-Impfstoffen sowie die allgemeine Impfempfehlung bei Kleinkindern und anderen Risikogruppen ist heute eine bessere Prophylaxe für HBV-Infektionen gegeben. Hinzu kommt die Möglichkeit einer symptomatischen Behandlung mit α-Interferon. Es konnte gezeigt werden, dass bei 40–50% der Patienten mit aktiver chronischer Hepatitis-B ein positives Ansprechen auf die Behandlung zu erwarten ist.[4,5]

Um eine Hepatitis-B-Infektion einordnen zu können, ist die Auswertung von diversen in den drei verschiedenen Infektionsphasen (Inkubations-, Akut- und Rekonvaleszenzphase) exprimierten serologischen Markern erforderlich. Das Vorhandensein dieses Antigens weist auf eine laufende HBV-Infektion hin. Nachweisbar ist es in akuten Krankheitsfällen und in chronischen Trägern.[1,2,4]

Methodik

IMMULITE 2000 HBsAg ist ein Festphasen 2-Schritt Chemilumineszenz Immunoassay. Die Festphase, eine Polystyrolkugel, ist mit einem Antikörper, der gegen das Hepatitis B Oberflächenantigen gerichtet ist, beschichtet.

Die Patientenprobe wird in das Reaktionsröhrchen, das die beschichtete Kugel enthält hinzugefügt. Ein mit alkalischer Phosphatase konjugierter anti-HBs Antikörper wird ebenfalls in das Reaktionsröhrchen zugegeben. Nach entsprechenden Wasch- und Inkubationsschritten wird das Chemilumineszenz-Substrat einer Hydrolyse in Gegenwart von alkalischer Phospatase unterworfen. Das im Luminometer gemessen Photonen-Signal steht indirektem Bezug zu dem in der Probe vorliegenden HBsAg.

Inkubationszyklen: 2 × 30 Minuten
Zeit zum ersten Ergebnis: 65 Minuten

Probengewinnung

Lipämie kann sich auf die Testergebnisse auswirken. Bei lipämischen Proben ist es empfehlenswert, die Fettanteile mittels Ultrazentrifuge zu trennen.

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 Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter Antikoagulantientherapie können eine verlängerte Gerinnungszeit aufweisen.

Blutentnahmeröhrchen von verschiedenen Herstellern können differierende Werte verursachen. Dies hängt von den verwendeten Materialien und Additiven (Gel oder physische Trennbarrieren, Gerinnungsaktivatoren und /oder Antikoagulantien) ab. IMMULITE 2000 HBsAg sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel „Alternative Probenarten“ zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 100 µl Serum oder Plasma (Heparin, Na-Citrat oder EDTA).

Lagerung: 2 Tage bei Raumtemperatur (15–28°C).[8]
3 Tage bei 2–8°C.[6,8]
Für eine längere Lagerung bei –20°C einfrieren.[7]

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *In-vitro*-Diagnostik.

VORSICHT! BIOLOGISCHES RISIKOMATERIAL
Enthält Material humanen Ursprungs. Alle Blutspenden oder Blutkomponenten menschlicher Herkunft wurden nach FDA-genehmigten Methoden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die HI-Viren Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2) sowie von Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und Antikörpern gegen den Hepatitis C-Virus (HCV) getestet. Die Testergebnisse waren negativ (nicht wiederholt reaktiv). Durch keinen Test kann das Vorhandensein dieser oder anderer infektiöser Stoffe vollständig ausgeschlossen werden. Dieses Material ist mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und gemäß der allgemein anerkannten guten Laborpraxis zu handhaben.[8-10]

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.

Reagenzien: Bei 2–8°C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Bestimmten Komponenten wurde Natriumazid (< 0,1 g/dl) hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu verhindern, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

Der Kalibrator, die Schwachpositivkontrolle und die Positivkontrolle für das HBsAg-Testsystem enthalten HBsAg, das mit bewährten, belegten Methoden inaktiviert wurde. Trotzdem sollten alle Kontrollen stets so gehandhabt werden, als könnten sie Keime übertragen.

Die vom Labor an den Arzt weitergegebenen Ergebnisse sollten daher den folgenden Passus enthalten: „Die folgenden Ergebnisse wurden mit dem IMMULITE 2000-Testsystem zur Bestimmung von HBsAg erzielt. Sie sind nicht mit den Ergebnissen der Testsysteme anderer Hersteller austauschbar.“

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.

HBsAg Kugel-Container (L2HB12)
Mit Barcode. Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit einem murinen monoklonalen Anti-HBs-Antikörper. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KHB2: 1 Container

HBsAg Reagenzbehälter (L2HBA2)
Mit Barcode. 11,5 ml Proteinpufferlösung mit Konservierungsmittel. 11,5 ml alkalische Phosphatase (Rinderkalbsdarm), konjugiert mit einem polyklonalen anti-HBs-Antikörper (Ziege) in Pufferlösung, mit Konservierungsmittel. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KHB2: 1 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.

HBsAg Kalibrator (LHBR)
4 ml Humanserum mit inaktiviertem HBsAg (mit Konservierungsmittel). Der Kalibrator dient als Cutoff für den Assay. 14 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KHB2: 1 Flasche

HBsAg Kontrollen (LHBC1, LHBC2, LHBC3)
Drei Fläschchen (à 8 ml). **LHBC1 (Negativkontrolle):** Humanserum ohne HBsAg (mit Konservierungsmittel).
LHBC2, LHBC3 (Schwach-positivkontrolle, Positivkontrolle): Humanserum mit inaktiviertem HBsAg (mit Konservierungsmittel). 14 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KHB2: 1 Set

Die aktuellen Bereiche für das Kontrollverhältnis entnehmen Sie bitte der Packungsbeilage zur Kontrolle.

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Teströhrchen kleben, so daß die Barcodes vom Barcodereader des Systems gelesen werden können.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: (Wegwerf-) Reaktionsgefäße

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Teströhrchen.

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Verdünnung, Kalibration, Test- und Qualitätskontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme.

Kalibrationsintervall: 4 Wochen

Qualitätskontrollseren: Die im Lieferumfang enthaltene(n) Kontrolle(n) dient/dienen zur Qualitätskontrolle für die Überwachung des Testsystems.

Die aktuellen Bereiche für die Kontrollen entnehmen Sie bitte der Packungsbeilage zur Kontrolle.

Ergebnisse: Zur Gewährleistung optimaler Sensitivität und Spezifität wurden repräsentative Proben zur Ermittlung des Cutoff verwendet.

Die Berechnungen werden vom IMMULITE 2000-System automatisch erstellt. Der „Cutoff“ errechnet sich aus den Durchschnitts-Messwerten des Adjustors pro Sekunde (Mittelwert cps) multipliziert mit dem Kurvenparameter P1. (Siehe auch „Schwach-positiv Adjustor

cps und Kurvenparameter 1 in der IMMULITE 2000 Kitinformationssoftware, die über das Menü „Data Entry / Kit Entry“ erreicht werden kann).

Die Berechnung der Signal/Cutoff-Ratio (s/co) lässt sich durch nachfolgende Formel berechnen:

$$\text{s/co Ratio} = \frac{\text{Proben- oder Kontroll cps}}{\text{Mittelwert Adjustor cps} \times \text{P1}}$$

Die Berechnung der s/co-Ratio und die Angabe qualitativer Ergebnisse (reaktiv / nicht-reaktiv) erfolgt automatisch durch das IMMULITE 2000.

Das Ergebnis ist „reaktiv“, wenn das Signal für die betreffende Probe über dem Cutoff liegt und „nicht-reaktiv“, wenn es unter dem Cutoff liegt.

Interpretation der Ergebnisse

- Ein **„Reaktiv“** Ergebnis (s/co ≥ 1,0) zeigt an, dass HBsAg vorhanden ist und in der Patientenprobe erkannt wurde. Um die Reproduzierbarkeit eines positiven HBsAg-Ergebnisses zu überprüfen, sollte die betreffende Probe in einem Folgeansatz in Zweifachbestimmung erneut getestet werden.

  Sind aus einer Patientenprobe zwei von drei Ratio-Werten ≥ 100, so kann die Patientenprobe als „reaktiv“ berichtet werden. In diesem Falle ist eine Bestätigung mit dem IMMULITE 2000 HBsAg Bestätigungstest (L2KCH) nicht erforderlich.

  Sind mindestens zwei von drei Resultaten reaktiv mit Ratio-Werten < 100, so ist die Patientenprobe mit dem IMMULITE 2000 HBsAg Bestätigungstest (L2KCH) zu testen. Mit dieser Methode wird das Vorliegen von HBsAg basierend auf der Neutralisation von HBsAg-reaktiven Proben mittels anti-HBs-Antikörpern bestätigt. Proben mit initialen und wiederholt gefundenen Ratio-Werten von ≥ 1,0 und < 100, bei denen HBsAg im Bestätigungstest neutralisiert wurde, sind bestätigt reaktiv für HBsAg. Testergebnisse sollten bestätigt werden, bevor Patienten über die Ergebnisse informiert werden.

  Ist keine der Doppelbestimmungen im Folgetest positiv, so sollte die Patientenprobe als HBsAg- nicht-reaktiv betrachtet werden.

- Ein **„Nicht-reaktiv“** Ergebnis (s/co < 1,0) weist darauf hin, dass die betreffende Patientenprobe nichtreaktiv ist und dass in der Probe kein HBsAg erkannt wurde.

- Wird HBsAg als Screeningtest bei Schwangeren eingesetzt um Neugeborene zu identifizieren, die dem Risiko ausgesetzt sind, sich während der Perinatalperiode mit HBV zu infizieren, so ist der IMMULITE 2000 HBsAg Bestätigungstest (L2KCH) zur Bestätigung der Ergebnisse zu verwenden. Hierbei ist es unerheblich ob Ratio-Werte über oder unter 100 liegen.

- Da in seltenen Fällen alle hochsensitiven Immunoassays falsch reaktiv Ergebnisse liefern können, ist das Ergebnis unbedingt zu bestätigen, bevor es dem Patienten mitgeteilt wird.

Die vom Labor an den Arzt weitergegebenen Ergebnisse sollten daher den folgenden Passus enthalten: „Die folgenden Ergebnisse wurden mit dem IMMULITE 2000-Testsystem zur Bestimmung von HBsAg erzielt. Sie sind nicht mit den Ergebnissen der Testsysteme anderer Hersteller vergleichbar.“

Referenzwerte

Akut mit dem Hepatitis-B-Virus infizierte Patienten zeigen zwischen einem und vier Monaten nach der Exposition einen raschen Anstieg und Abfall der nachweisbaren HBsAg-Werte, normalerweise bis zum Ende des klinischen Krankheitsverlaufs. 5–10% der akut infizierten Erwachsenen werden zu chronischen Trägern des Virus.[1,4] Bei diesen chronischen Trägern ist kein wesentlicher Abfall der HBsAg-Konzentration zu beobachten.

Grenzen der Methode

Die Testergebnisse sind im Zusammenhang mit der klinischen Anamnese, der vorliegenden Symptome sowie weiterer Laborbefunde zu bewerten.

Lipämische, hämolytische oder kontaminierte Proben können zu fehlerhaften Resultaten führen.

Umgekehrt lässt ein nicht-reaktiv Ergebnis nicht darauf schließen, dass der betreffende Patient nicht mit HBV infiziert ist. Die Patientenprobe sollte auf das Vorhandensein weiterer serologischer Marker getestet werden.

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 Verhältnis Signal/Cutoff dargestellt. (Alle Daten wurden – sofern nicht anders angegeben – aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Testansätzen in Doppelbestimmung gemessen (insgesamt 40 Bestimmungen und 80 Einzelmessungen). (Siehe Tabelle „Precision“.)

Bilirubin: Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 400 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Hämolyse: Hämolyse beeinflussen die Methode (siehe Tabelle „Hemolysis“).

Lipämie: Lipämie beeinflussen die Methode (siehe Tabelle „Lipemia“).

Alternativer Probentyp: Die Proben (n = 60) wurden in unbehandelte, heparinisierte, Na-Citrat und EDTA-behandelte Vacutainer-Röhrchen gefüllt. 41 Proben wurden mit dem HBsAg gespikt und anschließend alle Proben im IMMULITE 2000 HBsAg getestet. Die Ergebnisse sind als Signal-Cutoff-Ratio (s/co) angegeben.

(Heparin) = 0,99 (Serum) + 1,93
r = 1,00

(Na-Citrat) = 0,96 (Serum) + 0,83
r = 1,00

(EDTA) = 0,98 (Serum) + 1,52
r = 1,00

Mittelwert:
219 (Serum)
218 (Heparin)
211 (Na-Citrat)
216 (EDTA)

Methodenvergleich 1: Dieses Testsystem wurde unter Verwendung von 231 Patientenproben mit dem Abbott AUSZYME MONOCLONAL, einem kommerziell erhältlichen Enzymimmunoassay zur Bestimmung von HBsAg, verglichen.

	IMMULITE 2000			
Abbott	Reak	Nicht-reaktiv	Relative Sensitivität	Relative Spezifität
Reaktiv	16	0		
Nicht-reaktiv	3	212	100%	99%

Übereinstimmung: 99%

Methodenvergleich 2: In einer Studie wurde der IMMULITE 2000 HBsAg-Assay mit dem Elecsys HBsAg Immunoassay anhand von 2438 Proben verglichen. Die Proben setzten sich aus nachfolgend aufgeführten Kollektiven zusammen: Serokonversionspanels, potentiell kreuzreaktive Seren, Proben von Patienten mit akuter und chronischer Infektion, Blutspender und Proben aus einem diagnostischen Routinelabor.

	Anzahl der Proben					
	HBsAg Reaktiv	HBsAg Nicht-reaktiv	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV
IMMULITE 2000 HBsAg						
Reaktiv	238	0	93,7%	100%	100%	99,3%
Nicht-reaktiv	16	2184				
Elecsys HBsAg						
Reaktiv	254	0	100%	100%	100%	100%
Nicht-reaktiv	0	2184				

Methodenvergleich 3: In einer Studie wurde der IMMULITE 2000 HBsAg-Assay mit dem AxSYM HBsAg Immunoassay anhand von 438 Proben verglichen. Die Proben setzten sich aus nachfolgend aufgeführten Kollektiven zusammen: Serokonversionspanels und Proben von Patienten mit chronischer Infektion.

IMMULITE 2000	Reakt	Reakt	Nicht-reaktiv	Nicht-reaktiv	
AxSYM	Reak.	Nicht-reaktiv	Reak.	Nicht-reaktiv	Übereinstimmung
Serokonversion (n = 340)	148	3	7	182	97,1%
chronischer HBV Infektion (n = 98)	98	0	0	0	100%
Gesamt (n = 438)	246	3	7	182	97,7%

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

siemens.com/healthcare

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

HBsAg

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE 2000 — para la detección cualitativa del antígeno de superficie de hepatitis B (HBsAg) en suero humano o plasma (heparinizado, con citrato de sodio o EDTA). Está estrictamente indicado para su uso in vitro como ayuda en la determinación de infecciones agudas o crónicas por virus de hepatitis B.

Referencia: **L2KHB2** (200 tests)

Código del Test: **HBS**
Código de Color: **Naranja**

Resumen y Explicación del Test

El virus de la hepatitis B (HBV) es el único patógeno humano de la familia de los virus de ADN asociados a hepatitis, y se encuentra en todo el mundo. La distribución de la infección por HBV variará entre áreas geográficas y grupos de población. La transmisión del virus se produce por contacto parenteral, a través del intercambio de sangre o productos sanguíneos, contacto sexual y contagio perinatal de la madre al recién nacido[1,2]. Las manifestaciones clínicas van desde infecciones asintomáticas suaves a hepatitis fulminante grave[1,2,3]. Más del 90% de los adultos infectados padecerán una infección aguda autolimitada[1], con ictericia y funcionamiento anormal del hígado. La recuperación se produce sin secuelas crónicas[1,2].

La enfermedad hepática crónica, un estado en el cual la infección persiste durante más de seis meses, secuela conocida de la infección por hepatitis B, suele ser progresiva[1,2]. El riesgo de desarrollar el estado de portador crónico es más probable si la infección se adquiere durante la infancia que si se adquiere durante la edad adulta[4,5]. En los portadores crónicos de HBV no hay evidencia de daño hepático continuado[1,2], aunque la infección persiste y el portador conserva la capacidad de transmitir el virus[2].

La disponibilidad de vacunas recombinantes para HBV y la recomendación de inmunización universal para los niños y otras personas de alto riesgo ha contribuido a la prevención de la infección por HBV. Además, se encuentra disponible un tratamiento con interferón alfa para aliviar los síntomas. Los resultados demuestran una respuesta positiva al tratamiento en el 40 al 50% de los individuos seleccionados con hepatitis B crónica activa[4,5].

La clasificación de una infección por hepatitis B requiere la identificación de varios marcadores serológicos que se expresan durante las tres fases de la infección (incubación, fase aguda y convalecencia). El primer marcador en aparecer en el suero es al antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg). La presencia de este antígeno indica una infección actual con HBV, y es detectable en la enfermedad aguda y en los portadores crónicos[1,2,4].

Principio del Análisis

IMMULITE 2000 HBsAg es un inmunoanálisis quimioluminiscente enzimático en fase sólida, de dos pasos. La fase sólida, una bola de poliestireno, está recubierta de un anticuerpo dirigido contra el antígeno de superficie de la hepatitis B (anti-HBs).

La muestra del paciente se añade al Tubo de Reacción que contiene la bola recubierta. Un anticuerpo anti-HBs marcado con fosfatasa alcalina se añade también al Tubo de Reacción. Después de los pasos de lavado e incubación, el sustrato quimioluminiscente sufre una hidrólisis en presencia de la fosfatasa alcalina. El fotón generado, detectado por el luminómetro, se relaciona con la presencia de HBsAg en la muestra.

Ciclos de incubación: 2 × 30 minutos
Tiempo hasta el primer resultado: 65 minutos

Recogida de la muestra

La lipemia puede interferir con el ensayo. Se recomienda ultracentrífugar 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 centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El HBsAg 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: 100 µl suero o plasma (heparinizado, con citrato de sodio o EDTA).

Conservación: 2 días a temperatura ambiente (15–28°C)[8].
3 días a 2–8°C[6,8].
Para mayor periodo de tiempo: a –20°C[7].

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.



¡PRECAUCIÓN! RIESGO BIOLÓGICO POTENCIAL
Contiene material de origen humano. Cada donación de sangre humana o componente sanguíneo ha sido probada por métodos aprobados por la FDA con el fin de detectar la presencia de anticuerpos de los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2), así como el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y el anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (VHC). Los resultados de estas pruebas fueron negativos (no repetidamente reactivos). Ninguna prueba ofrece total garantía de que en las muestras no haya estos agentes infecciosos u otros; por tanto, este material se deberá manipular conforme a las prácticas recomendables de laboratorio y las precauciones universales[8-10].

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.

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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las cañerías de cobre y plomo.

El ajustador de HBsAg y los controles positivo y positivo bajo de HBsAg contienen HBsAg inactivado mediante métodos documentados y probados. No obstante, siempre hay que manejar los controles como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos.

La concentración de HBsAg en una muestra dada, determinada mediante ensayos de distintos fabricantes, puede variar debido a diferencias en los métodos de ensayo y la especificidad del reactivo. Los resultados enviados por el laboratorio al médico deberían incluir lo siguiente: “Los siguientes resultados se han obtenido con el ensayo de HBsAg IMMULITE 2000. No se pueden intercambiar con los valores obtenidos con los métodos de ensayo de otros fabricantes.”

Substrato quimioluminiscente: Evitar la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

Agua: Usar agua destilada o desionizada.

Materiales Suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

Cartucho de bolas de HBsAg (L2HB12)
Con códigos de barras. 200 bolas recubierta de anticuerpo monoclonal murino anti-HBs. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KHB2: 1 cartucho

Vial de Reactivo de HBsAg (L2HBA2)
Con códigos de barras. 11,5 ml de un tampón con proteína proteína, con conservante. 11,5 ml fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con anticuerpo policlonal de cabra anti-HBs en solución tampón, con conservante. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KHB2: 1 vial

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.

Ajustadore de HBsAg (LHBR)
4 ml suero humano no reactivo a HBsAg, con conservante. El ajustador sirve como valor de corte del ensayo. Estable a 2–8°C durante 14 días después de abrirse o durante 6 meses (alicuotado) a –20°C.
L2KHB2: 1 vial

Controles de HBsAg (LHBC1, LHBC2, LHBC3)
Tres viales (Negativo, Bajo Positivo, y Positivo) contiene cada uno 8 ml. **LHBC1 (El Control Negativo):** contiene suero humano sin HBsAg, con conservante. **LHBC2, LHBC3 (El Control Bajo Positivo, Control Positivo):** contiene suero humano con HBsAg inactivado, con conservante. Estable a 2–8°C durante 14 días después de abrirse o durante 6 meses (alicuotado) a –20°C.
L2KHB2: 1 juego

Para los intervalos control actuales, por favor consulte el prospecto del Control.

Antes de procesar adjustadores o controles, 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: Substrato 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

Aviso: para obtener un funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste: 4 semanas

Muestras de Control de Calidad: El/los control(es) suministrados con el kit deben utilizarse como control de calidad con el objetivo de controlar el funcionamiento del ensayo.

Para los intervalos control actuales, por favor consulte el prospecto del Control.

Calculo de Cutoff y Ratio S/CO: El punto de corte (Cutoff) Master del ensayo fue determinado con muestras representativas que mostraron una óptima sensibilidad y especificidad para el ensayo.

El cutoff es obtenida de la media de las cuentas por segundo (media de cps) del ajustador bajo (del ajuste mas reciente) multiplicada por el parametro 1 de la curva. (Ver “Low Adjustor CPS” and “Curve Parameter 1” dentro de la pantalla de Información del Kit a la cual se entra a traves del menú del IMMULITE 2000 via Data Entry: Kit Entry.)

El cálculo del ratio señal/cutoff (s/co) se realiza utilizando la formula siguiente:

$$\text{S/CO Ratio} = \frac{\text{cps Muestra o Control}}{\text{Media cps Ajustador} \times \text{P1}}$$

El cálculo nos mostrará un informe cualitativo (reactivo / no reactivo) y resultados del ratio s/co realizados automaticamente por el IMMULITE 2000.

El resultado es “reactivo” si las cuentas por segundo están por encima del valor de corte, y “no reactivo” si están por debajo del valor de corte.

Interpretación de los resultados

- Resultado **“Reactivo”** (ratio ≥ 1,0) indica que HBsAg está presente y fue detectado en la muestra del paciente. Muestras inicialmente reactivas para HBsAg deberían ser reensayadas en duplicado para verificar que se repite el resultado.

  Si al menos dos de tres resultados de ratios son ≥ 100 para una muestra individual, la muestra del paciente puede informarse como reactiva y no requiere analizarse con el kit de confirmación para HBsAg IMMULITE 2000 (L2KCH).

  Si al menos dos de tres resultados de ratios son reactivos, con ratios < 100, la muestra del paciente debe analizarse utilizando el kit de confirmación para HBsAg IMMULITE 2000 (L2KCH), un procedimiento para confirmar la presencia de HBsAg basado en la neutralización de muestras HBsAg-reactivas con anti-HBs. Esas muestras con ratios de inicio y repetidos ≥ 1,0 y < 100, en las cuales el HBsAg es neutralizado por el procedimiento de confirmación, se consideran reactivos confirmados frente a HBsAg. Es importante que los resultados sean confirmados antes de informar a los pacientes los resultados de la prueba.

  Si ninguno de los duplicados reensayados es positivo, la muestra del paciente será considerada no reactivo para HBsAg.

- Un resultado **“No reactivo”** (ratio < 1,0) indica que HBsAg no está presente y no fué detectado en la muestra del paciente.

- Cuando HBsAg se utiliza como una prueba autónoma en el cribado de mujeres gestantes para identificar neonatos con riesgo de adquirir el virus HBV durante el periodo prenatal, debe utilizarse un análisis complementario con el Kit de Confirmación para HBsAg IMMULITE 2000 para confirmar el resultado, sin importar si los resultados de ratios reactivos están por encima o por debajo de 100.

- Aunque el ensayo posee una alta sensibilidad podrían darse raros casos de resultados falsos reactivos, siendo importante confirmar los resultados antes de entregar el informe al paciente.

Los resultados enviados por el laboratorio al médico deberían incluir lo siguiente: "Los siguientes resultados se han obtenido con el ensayo de HBsAg IMMULITE 2000. No se pueden intercambiar con los valores obtenidos con los métodos de ensayo de otros fabricantes."

Valores esperados

Individuos con infección aguda por el virus de Hepatitis B exhibirán un rápido aumento y declive de niveles detectables de HBsAg entre uno y cuatro meses tras la exposición; normalmente durante el transcurso de la enfermedad clínica. De los adultos infectados de forma aguda, el 5–10% se convertirán en portadores crónicos del virus[1,4]. En portadores crónicos, no se observa disminución significativa del nivel de HBsAg.

Limitaciones

Los resultados del análisis deben contemplarse en el contexto del historial clínico de los pacientes, de su sintomatología y de los demás hallazgos del laboratorio.

Las muestras lipémicas, hemolizadas o ampliamente contaminadas pueden dar resultados erróneos.

Un resultado no reactivo no indica que el paciente no esté infectado con HBV. La muestra del paciente debe analizarse para detectar la presencia de otros marcadores serológicos.

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 son expresados como ratio de la señal al cutoff. (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.)

Precisión: Las muestras fueron analizadas por duplicado durante 20 días, en dos tandas de trabajo por día, para un total de 40 tandas y 80 replicados. (Ver la tabla de "Precision".)

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina, en concentraciones hasta 400 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Hemólisis: Hemólisis puede causar un cambio en los valores. (Ver la tabla de "Hemolysis".)

Lipemia: Lipemia puede causar un cambio en los valores. (Ver la tabla de "Lipemia".)

Tipo de Muestra Alternativa: Se han recogido muestras en tubos Vacutainers sin anticoagulante y heparinizados, Na-citrato y en tubos Vacutainers con EDTA (n = 60). 41 muestras fueron cargadas con HBsAg y todas fueron procesadas con el kit IMMULITE 2000 HBsAg. Los resultados son expresados como ratio de la señal al cutoff.

(Heparina) = 0,99 (Suero) + 1,93
r = 1,00

(NaCitrato) = 0,96 (Suero) + 0,83
r = 1,00

(EDTA) = 0,98 (Suero) + 1,52
r = 1,00

Medias:
219 (Suero)
218 (Heparina)
211 (NaCitrato)
216 (EDTA)

Comparación de los métodos 1:
El ensayo se comparó con el ensayo AUSZYME MONOCLONAL de Abbot, un inmunoensayo enzimático, disponible en el mercado, para HbsAg, sobre muestras de 231 pacientes.

	IML 2000			
Abbott	React	No react	Sensibilidad relativa	Especificidad relativa
Reactivo	16	0		
No reactivo	3	212	100%	99%

Concordancia: 99%

Comparación de los métodos 2:
Se comparó el procedimiento HBsAg IMMULITE 2000 con el inmunoensayo HBsAg Elecsys en 2438 muestras. Las muestras consistieron de paneles de seroconversión, muestras con reactividad cruzada potencial, muestras de pacientes con infección HBV crónica y aguda, de donantes de sangre y de pacientes hospitalizados y muestras de rutina. La tabla de abajo presenta los resultados de este estudio.

	No. de muestras					
	HBsAg React	HBsAg No react	Sensibilidad	Especificidad	PPV	NPV
IMMULITE 2000 HBsAg						
Reactivo	238	0				
No reactivo	16	2184	93,7%	100%	100%	99,3%
Elecsys HBsAg						
Reactivo	254	0				
No reactivo	0	2184	100%	100%	100%	100%

Comparación del Método 3: Se comparó el procedimiento HBsAg IMMULITE 2000 con el inmunoensayo HBsAg AxSYM en 438 muestras. Las muestras consistieron de paneles de seroconversión y muestras de pacientes con infección HBV crónica. La tabla de abajo presenta los resultados de este estudio.

IMMULITE 2000	React	React	No react	No react	
AxSYM	React	No react	React	No react	Concordancia
Seroconversión (n = 340)	148	3	7	182	97,1%
Infección HBV crónica (n = 98)	98	0	0	0	100%
Total (n = 438)	246	3	7	182	97,7%

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

siemens.com/healthcare

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

IMMULITE 2000 HBsAg

Domaine d'utilisation : Dosage qualitatif de *l'antigène de surface du virus de l'hépatite B* (HBsAg) dans le sérum ou le plasma humain (hépariné, citraté ou EDTA). Ce test est réservé à un usage *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000 et constitue une aide pour la diagnostic détermination des infections aiguës ou chroniques par le virus de l'hépatite B.

Référence catalogue :
L2KHB2 (200 tests)

Code produit : **HBS**
Code couleur : **orange**

Introduction

Le virus de l'hépatite B (HBV) est l'unique virus humain pathogène de la famille des virus à ADN associés à l'hépatite. Il est ubiquitaire. La distribution de l'infection à HBV est variable en fonction des zones géographiques et des groupes de population. Le virus est transmis par contact parentéral, par le sang ou les produits sanguins, par contact sexuel ou par contamination périnatale de la mère à l'enfant.[1,2] Les manifestations cliniques vont de l'infection asymptomatique modérée à l'hépatite fulminante.[1,2,3]

Plus de 90% des adultes infectés auront une infection aiguë, avec ictère et dysfonctionnement hépatique, qui guérira d'elle même.[1] La guérison ne s'accompagne d'aucune séquelle chronique.[1,2]

L'hépatite chronique, état clinique où l'infection dure plus de 6 mois, est une séquelle connue et habituellement progressive[1,2] d'une infection par le virus de l'hépatite B. Le risque de devenir porteur chronique est plus important après une infection contractée dans l'enfance qu'à l'âge adulte.[4,5] Il n'y a pas toujours de signe de lésion hépatique chez les porteurs chroniques,[1,2] mais l'infection persiste et le porteur reste contagieux.[2]

La mise au point de vaccins recombinants pour l'HBV et la vaccination systématique recommandée chez les enfants en bas âge et les personnes très exposées, ont été utiles à la prévention des infections par l'HBV. De plus, le traitement symptomatique par l'interféron alpha est maintenant disponible. Les résultats montrent une réponse positive au traitement chez 40 à 50% d'individus sélectionnés ayant une hépatite B chronique.[4,5]

La classification d'une infection par l'HBV nécessite la recherche de plusieurs marqueurs sérologiques exprimés au cours des trois phases (incubation ; phase aiguë ; convalescence) de l'infection. Le premier marqueur apparaissant dans le sérum est l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (HBsAg). La présence de cet antigène témoigne d'une infection en cours par l'HBV. L'antigène HBs est détectable à la phase aiguë de l'infection et chez les porteurs chroniques.[1,2,4]

Principe du test

IMMULITE 2000 HBsAg est un immunodosage enzymatique chimiluminescent en phase solide en deux étapes. La phase solide, faite d'une bille en polystyrène, est revêtue d'un anticorps destiné à entraver l'action de l'antigène de surface de l'hépatite B (anti-HBs).

L'échantillon prélevé sur le patient est ajouté au godet réactionnel contenant une bille revêtue. Un anticorps anti-HBs marqué à la phosphatase alcaline est également ajouté au godet réactionnel. Après les phases de lavage et d'incubation, le substrat chimiluminescent est hydrolysé en présence de phosphatase alcaline. L'émission de photon, mesurée par le luminomètre, est due à la présence d'HBsAg dans l'échantillon.

Cycles d'incubation : 2 × 30 minutes
Temps de rendu du premier résultat : 65 minutes

Recueil des échantillons

Une lipémie pourra interférer avec le dosage. Il est recommander de clarifier les échantillons lipémiques par ultracentrifugation.

Des échantillons hémolysés peuvent être le signe d'une souffrance de l'échantillon avant sa réception par le laboratoire, les résultats doivent donc être analysés avec prudence.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dûs 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 HBsAg 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 : 100 µl de sérum ou de plasma (hépariné, citraté ou EDTA).

Conservation: 2 jours à température ambiante (15–28°C).[8]
3 jours à 2–8°C.[6,8]
Pour une conservation prolongée, garder à –20°C.[7]

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL
Contient du matériel d'origine humaine. Chaque don de sang ou de composant sanguin humain a été testé selon des méthodes homologuées par la FDA afin de détecter la présence d'anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2), ainsi que la présence d'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) et d'anticorps anti-virus de l'hépatite C (VHC). Les résultats de ces tests se sont révélés négatifs (ou positifs mais de façon non répétable). Aucun test ne peut garantir totalement l'absence d'agents infectieux tels que ceux-ci ou d'autres. Par conséquent, ce matériel doit être manipulé conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux précautions universelles.[8-10]

AVERTISSEMENT: Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.

Réactifs : conserver les réactifs à 2–8°C. Eliminer les déchets conformément à la réglementation en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-HCV et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

L'ajusteur, les contrôle HBsAg positif faible et positif contiennent de l'antigène HBs qui a été inactivé selon des méthodes avérées et documentées. Néanmoins, il convient de toujours manipuler les contrôles comme s'ils contenaient des agents potentiellement infectieux.

Les résultats d'HBsAg obtenus sur un échantillon donné, avec les tests de différents fabricants, pourront présenter des différences dues à la méthologie utilisée et à la spécificité du réactif. Par conséquent, les résultats communiqués au médecin par le laboratoire devront comporter la mention suivante : « Les résultats suivant ont été obtenus avec le dosage IMMULITE 2000 HBsAg. Les résultats obtenus avec les trousses d'autres fabricants ne doivent pas y être substitués. »

Substrat chimiluminescent : éviter la contamination et l'exposition directe au soleil. (Voir notice.)

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 HBsAg (L2HB12)
Avec code-barres. 200 billes revêtues d'un anticorps monoclonal murin anti-HBs. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KHB2 : 1 cartouche

Cartouche à réactif HBsAg (L2HBA2)
Avec code-barres. 11,5 ml de tampon à base de protéines, avec conservateur. 11,5 ml d'anticorps de chèvre anti-HBs marqué par la phosphatase alcaline (intestins de veau) avec conservateur. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KHB2: 1 cartouche

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.

Ajusteur HBsAg (LHBR)
4 ml du sérum humain avec l'antigène HBs inactivé, avec conservateur. L'ajusteur sert à définir le seuil du dosage. Stable à 2–8°C pendant 14 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KHB2: 1 flacon

Contrôles HBsAg (LHBC1, LHBC2, LHBC3)
Trois flacons (négatif, positif faible et positif) contenant 8 ml chacun. **LHBC1 (Contrôle Négatif) :** sérum humain sans antigène HBs, avec conservateur. **LHBC2, LHBC3 (Contrôle Positif Faible, Contrôle Positif) :** sérum humain contenant de l'antigène HBs inactivé, avec conservateur. Stable à 2–8°C pendant 14 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KHB2: 1 jeu

Pour connaître la valeur de ratio contrôle actuelle, veuillez vous reporter à la notice d'emploi du contrôle.

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes 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 à essai

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000.

Voir le Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000 pour la préparation, le démarrage du système, la dilution, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement : 4 semaines

Echantillons pour le contrôle de qualité : le ou les contrôle fournis avec le coffret devront être utilisés comme contrôle de qualité pour le suivi des performances du dosage.

Pour connaître l'intervalle acceptable pour les contrôles en cours, se référer à la fiche technique des contrôles.

Résultats: Le seuil du dosage est déterminé avec des échantillons représentatifs afin d'obtenir la sensibilité et la spécificité optimales pour le dosage.

Le seuil est défini comme le nombre moyen de coups par seconde (cps) de l'ajusteur (provenant de l'ajustement le plus récent) multiplié par le Paramètre n° 1. (Voir les champs « CPS Ajusteur bas » et « Paramètre 1 » de l'écran « Coffret ».)

Le calcul du rapport Signal/Seuil utilise l'équation suivante :

$$\text{Rapport} = \frac{\text{CPS échantillon ou contrôle}}{\text{CPS moyen ajusteur x P1}}$$

Le calcul et l'édition des résultats qualitatifs (réactif / non-réactif) ainsi que le ratio s/co sont automatiquement calculés par l'IMMULITE 2000.

Le résultat est « réactif » si le nombre de coups par seconde pour cet échantillon est supérieur au seuil et “non-réactif” s'il est inférieur au seuil.

Interprétation des résultats

- Un résultat « **réactif** » (rapport ≥ 1,0) indique que de l'antigène HBs est présent et a été dosé dans l'échantillon du patient. Les échantillons initialement trouvés positifs pour l'HBsAg devront être retestés en double pour contrôler la validité du résultat initial.

  Si au moins deux ratios de résultats sur trois sont ≥ 100 pour un échantillon individuel, l'échantillon du patient peut être déclaré réactif et il n'est pas nécessaire de le tester avec le test de confirmation IMMULITE 2000 HBsAg (Réf. catalogue : L2KCH).

Si au moins deux ratios de résultats sur trois sont réactifs et que les ratios sont < 100, l'échantillon du patient doit être testé en utilisant le test de confirmation IMMULITE 2000 HBsAg (Réf. catalogue : L2KCH). Cette procédure permet de confirmer la présence d'HBsAg en neutralisant, à l'aide d'anti-HBs, les échantillons qui réagissent à l'HBsAg. Doivent être considérés comme réactifs confirmés à l'HBsAg les échantillons dont les ratios initiaux et les ratios de confirmation sont ≥ 1.0 et < 100 et chez lesquels l'HBsAg est neutralisée par le test de confirmation. Il est crucial que les résultats soient confirmés avant que les patients ne soient informés des résultats des tests.

Si le doublet de l'échantillon retesté n'est pas positif, l'échantillon doit être considéré non-réactif pour l'antigène HBs.

- Un résultat « **non-réactif** » (rapport < 1,0) indique que l'antigène HBs n'a pas été détecté dans l'échantillon.
- L'HBsAg peut être utilisé de façon isolée pour dépister des femmes enceintes et identifier les nouveau-nés qui risquent d'être infectés par le VHB au cours de la période périnatale. Que les résultats de ratio réactifs soient supérieurs ou inférieurs à 100 il convient, pour confirmer le résultat, de procéder alors à un test supplémentaire avec un test de confirmation IMMULITE 2000 HBsAg par exemple.
- Puisque en de rares occasions les immunodosages très sensibles sont susceptibles de produire des faux réactif, il est essentiel avant d'informer les patients que les résultats soient confirmés.

Les résultats communiqués au médecin par le laboratoire devront comporter la mention suivante : « Les résultats suivant ont été obtenus avec le dosage IMMULITE 2000 HBsAg. Les résultats obtenus avec les trousses d'autres fabricants ne doivent pas y être substitués. »

Valeurs de référence

Les individus infectés de façon aiguë par le virus de l'hépatite B ont une élévation et un déclin rapides des taux d'antigène HBs détectables, dans les 1 à 4 mois suivant la contamination, habituellement pendant la durée de la maladie clinique. 5 à 10% des adultes infectés de façon aiguë deviendront des porteurs chroniques du virus.[1,4] Chez ces porteurs chroniques, aucune diminution significative du taux d'antigène HBs n'est observée.

Limites

Les résultats du test doivent impérativement être confrontés au contexte clinique, à la symptomatologie et autres résultats de laboratoire.

Des échantillons hyperlipémiques, hémolysés ou fortement contaminés peuvent donner des résultats erronés.

Un résultat non-réactif n'indique pas que le patient n'est pas infecté par l'HBV. Sur cet échantillon d'autres marqueurs sérologiques doivent être recherchés.

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 rapport Signal/Seuil. (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.)

Précision : les valeurs ont été établies à partir de doublets dosés dans deux séries différentes chaque jour pendant 20 jours soit au total 40 séries et 80 doublets. (Voir le tableau « Precision ».)

Bilirubine : La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 400 mg/l.

Hémolyse : la présence de hémolyse peut entraîner un shift des valeurs. (Voir le tableau « Hemolysis ».)

Lipémie : la présence de lipémie peut entraîner un shift des valeurs. (Voir le tableau « Lipemia ».)

Autres types d'échantillons: les échantillons (n = 60) ont été recueillis sur tubes vacutainer secs, héparinés, citratés ou EDTA. 41 échantillons ont été chargés avec de l'antigène HBs et tous les échantillons ont été dosés avec le test IMMULITE 2000 HBsAg. Les résultats sont exprimés en rapport Signal/Seuil.

(Héparine) = 0,99 (Sérum) + 1,93
r = 1,00

(Citrate) = 0,96 (Sérum) + 0,83
r = 1,00

(EDTA) = 0,98 (Sérum) + 1,52
r = 1,00

Moyennes*:*
219 (Sérum)
218 (Héparine)
211 (Citrate)
216 (EDTA)

Comparaison de méthodes 1: Le dosage a été comparé, sur 231 échantillons de patients, au test AUSZYME MONOCLONAL d'Abbott, dosage immuno-enzymatique de l'antigène HBs disponible commercialement.

	IMMULITE 2000			
Abbott	Réactif	Non-réactif	Sensibilité relative	Spécificité relative
Réactif	16	0		
Non-réactif	3	212	100%	99%

Concordance : 99%

Comparaison de méthodes 2 : Le test IMMULITE 2000 HBsAg a été comparé au test Elecsys HBsAg sur 2438 échantillons, comprenant des panels de séroconversion, des échantillons pouvant entraîner des réactions croisées, des échantillons de patients en phase aiguë et phase chronique d'infection par HBV, des donneurs de sang, des patients hospitalisés et des échantillons tout venant. Le tableau ci-dessous présente les résultats de cette étude.

	Nbre d'échantillons					
	HBsAg Réactif	HBsAg Non-réactif	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
IMMULITE 2000 HBsAg						
Réactif	238	0				
Non-réactif	16	2184	93,7%	100%	100%	99,3%
Elecsys HBsAg						
Réactif	254	0				
Non-réactif	0	2184	100%	100%	100%	100%

Comparaison de méthodes 3 : Le test IMMULITE 2000 HBsAg a été comparé au test AxSYM HBsAg sur 438 échantillons, comprenant des panels de séroconversion et échantillons de patients en phase chronique. Le tableau ci-dessous présente les résultats de cette étude.

IMMULITE 2000	Réac	Réac	Non-réac	Non-réac	
AxSYM	Réac	Non-réac	Réac	Non-réac	Concordance
séroconversion (n = 340)	148	3	7	182	97,1%
en phase chronique HBV (n = 98)	98	0	0	0	100%
Total (n = 438)	246	3	7	182	97,7%

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

siemens.com/healthcare

Le Système Qualité de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. est certifié ISO 13485.

Italiano

IMMULITE 2000 HBsAg

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE 2000 — per la determinazione qualitativa *dell'antigene di superficie dell'Epatite B* (HBsAg) nel siero o plasma umano (eparinizzato, citrato di sodio o EDTA), quale ausilio nella determinazione delle infezioni acute e croniche da virus dell'Epatite B.

Codice: **L2KHB2** (200 test)

Codice del Test: **HBS** Colore: **Arancione**

Riassunto e Spiegazione del Test

Il virus dell' Epatite B (HBV) è l'unico agente patogeno umano nella famiglia dei virus a DNA associati all'Epatite ed ha diffusione mondiale. La distribuzione dell'infezione da HBV varia a seconda della zona geografica e del gruppo di popolazione. La trasmissione del virus è dovuta a contatto parenterale, scambio di sangue o di prodotti derivati dal sangue, contatto sessuale, e trasmissione perinatale dalla madre al neonato.[1,2] Le manifestazioni cliniche variano da infezioni asintomatiche lievi all'epatite fulminante grave.[1,2,3] Più del 90% degli adulti che contraggono l'infezione presentano un'infezione acuta auto-limitante [1] con itterizia ed una funzionalità del fegato anomala. La remissione avviene senza sequele croniche.[1,2]

La malattia cronica del fegato, una condizione in cui l'infezione persiste per più di sei mesi, una sequela nota dell'infezione da epatite B, è spesso progressiva.[1,2] Il rischio di diventare portatore cronico è legato più probabilmente ad un'infezione contratta durante l'infanzia piuttosto che in età adulta.[4,5] Nei portatori cronici di HBV non si è dimostrata la persistenza di un danno epatico;[1,2] comunque, l'infezione persiste ed il portatore mantiene la capacità di trasmettere il virus.[2]

La disponibilità di vaccini ricombinanti per l'HBV e la raccomnadazione di immunizzare tutti i neonati ha costituito un aiuto nella prevenzione delle infezioni da HBV. Inoltre, è disponibile il trattamento con l'alfa-interferone per minimizzare i sintomi. I risultati hanno dimostrato una risposta positiva al trattamento nel 40–50% degli individui con Epatite cronica attiva di tipo B.[4,5]

La classificazione dell'infezione da virus dell'Epatite B richiede l'identificazione di alcuni marcatori sierologici espressi durante tre fasi dell'infezione: incubazione, fase acuta, e convalescenza. Il primo marcatore rilevabile nel siero è l'Antigene di Superficie dell'Epatite B (HBsAg). La presenza di questo antigene indica un'infezione sopravvenuta da HBV, ed è rilevabile in soggetti con malattie acute ed in portatori cronici.[1,2,4]

Principio del Dosaggio

IMMULITE 2000 HBsAg è un immunodosaggio enzimatico chemiluminescente su fase solida in due step. La fase solida, una sferetta in polistirene, è rivestita con un anticorpo diretto contro l'antigene di superficie dell'epatite B (anti-HBs).

Il campione di paziente è aggiunto alla provetta di reazione contenente una sferetta rivestita. Un anticorpo anti-HBs marcato con fosfatasi alcalina è inoltre aggiunto alla provetta di reazione. Dopo i passaggi di lavaggio e di incubazione, il substrato chemiluminescente è sottoposto ad idrolisi in presenza di fosfatasi alcalina. La luminescenza, misurata dal luminometro, è correlata alla presenza di HBsAg nel campione.

Cicli d'incubazione: 2 × 30 minuti
Tempo al Primo Risultato: 65 minuti

Prelievo dei Campioni

La lipemia potrebbe interferire con la prova. E' raccomandata un'ultricentrifuga per eliminare i campioni lipemici.

I campioni emolizzati possono indicare un 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 HBsAg non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume richiesto: 100 µL di siero o plasma (eparinizzato, citrato di sodio o EDTA).

Conservazione: 2 giorni a temperatura ambiente (15–28°C).[8]
3 giorni a 2–8°C.[6,8]
Per periodi più lunghi conservare a –20°C.[7]

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.



ATTENZIONE! POTENZIALE PERICOLO BIOLOGICO
Contiene materiale di origine umana. Ciascuna donazione di sangue o componenti ematici umani è stata testata con metodi approvati dalla FDA per rilevare la presenza di anticorpi al virus dell'immunodeficienza umana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2), nonché per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e gli anticorpi al virus dell'epatite C (HCV). I risultati del test sono stati negativi (non ripetutamente reattivi). Nessun test offre assicurazione completa che questi o altri agenti infettivi siano assenti; questo materiale va trattato utilizzando le corrette prassi di laboratorio e le precauzioni universali.[8-10]

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale portatore e trasmettitore di agenti patogeni.

Reagenti: Conservare a 2–8°C. Scartare in conformità alle leggi applicabili.

Seguire le precauzioni universali, e maneggiare tutti i componenti come se fossero capaci di trasmettere agenti infettivi. Sono stati analizzati i materiali di sorgente dal sangue umano e sono stati trovati non reattivi per sifilide; per anticorpi ad HIV 1 e 2; per l'antigeno superficiale dell'epatite B; e per anticorpi all'epatite C.

E' stata aggiunta Sodio Azide a concentrazioni inferiori a 0,1 g/dL come conservante. Al momento dell'eliminazione, irrorare con molta acqua per evitare la formazione di azidi metalliche potenzialmente esplosive nelle tubature di piombo e di rame.

Il calibratore, i controlli HBsAg basso positivo e HBsAg positivo contengono HBsAg inattivato mediante metodi validati e documentati. Comunque, è consigliabile trattarli come se potessero trasmettere agenti infettivi.

I risultati dell'HBsAg in un dato campione determinati utilizzando dosaggi di produttori diversi possono variare a causa delle differenze nei metodi di dosaggio, nella specificità dei reagenti. Quindi, i risultati provenienti dal laboratorio e diretti al medico devono includere quanto segue: “I seguenti risultati sono stati ottenuti con il kit IMMULITE 2000 HBsAg EIA. I valori ottenuti con dosaggi di altre case produttrici non sono interscambiabili”.

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 HBsAg (L2HB12)
Con codice a barre. 200 sferette coattate con un anticorpo monoclonale di topo anti-HBs. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KHB2: 1 confezione

Porta Reagente HBsAg (L2HBA2)
Con codice a barre. 11,5 mL di un tampone a base proteica, con conservanti. 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con un anticorpo policlonale di capra anti-HBs in un tampone, con conservanti. Stabile a

2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KHB2: 1 porta reagente

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.

Aggiustatore HBsAg (LHBR)
4 mL di siero umano con HBsAg inattivato, con conservanti. Il calibratore serve da cutoff. Stabile a 2–8°C per 14 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KHB2: 1 flacone

Controlli HBsAg (LHBC1, LHBC2, LHBC3)
3 flaconi (8 mL ciascuno). **LHBC1 (Controllo negativo):** siero umano privo di HBsAg, con conservanti. **LHBC2, LHBC3 (Controllo basso positivo, Controllo positivo):** siero umano con HBsAg inattivato, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 14 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KHB2: 1 set

Per le gamme attuali del rapporto di controllo, fare riferimento all'inserimento informativo del controllo.

Prima di eseguire i calibratori o i controlli collocare le etichette giuste sulle provette delle aliquote (fornite col kit) cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore dell'IMMULITE 2000.

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 ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione: 4 settimane

Controllo di Qualità: I controlli forniti con il kit devono essere utilizzati come materiale per il controllo di qualità per monitorare le prestazioni del dosaggio.

Per i range del controllo, fare riferimento alla metodica del controllo stesso.

Calcolo del Cutoff e Rapporto S/CO: Il Cutoff del dosaggio è stato determinato da campioni rappresentativi per raggiungere una sensibilità ed una specificità ottimali per il dosaggio.

Il cutoff viene stabilito uguale alle conte medie per secondo (cps medio) del calibratore (dalla calibrazione più recente), moltiplicato per il Parametro 1 della Curva (Vedere i campi “CPS del calibratore basso” e “Il Parametro 1 della Curva” sullo schermo dell'IMMULITE 2000 accessibile dal menu attraverso Data Entry: Kit Entry [Immissione dati: immissione kit]).

Il calcolo del rapporto segnale/cutoff (s/co) è effettuato utilizzando la seguente formula:

S/CO = cps del Campione o Controllo : i cps del Calibratore Medio x P1

Il calcolo ed il report dei risultati qualitativi (reattivo / non reattivo) e del rapporto s/co vengono gestiti automaticamente dall'IMMULITE 2000.

Il risultato è “reattivo” se le conte del campione sono superiori al cutoff, e "non reattivo" se il risultato è inferiore al cutoff.

Interpretazione dei risultati

- Un risultato **“reattivo”** (rapporto ≥ 1,0) indica che l'HBsAg è presente ed è stato rilevato nel campione del paziente. I campioni trovati inizialmente reattivi per l'HBsAg devono essere ridosati in duplicato per verificare che il risultato inizialmente reattivo sia ripetibile.

  Se almeno due di tre rapporti dei risultati sono ≥ 100 per un singolo campione, il campione di paziente può essere refertato come reattivo e non richiede di essere testato col

dosaggio di conferma IMMULITE 2000 HBsAg (L2KCH).

Se almeno due di tre rapporti dei risultati sono reattivi, con rapporti < 100, il campione di paziente deve essere testato utilizzando il dosaggio di conferma IMMULITE 2000 HBsAg (L2KCH), una procedura per confermare la presenza di HBsAg in base alla neutralizzazione di campioni reattivi a HbsAg con anti-HBs. I campioni con rapporti iniziali e ripetuti ≥ 1,0 e < 100, in cui HBsAg è neutralizzato dalla procedura del test di conferma, sono considerati confermati come reattivi per HBsAg. È essenziale che i risultati siano confermati prima che i pazienti siano informati dei risultati del test.

Se nessuno dei due duplicati del campione ridosato è reattivo, il campione del paziente deve essere considerato non reattivo per l'HBsAg.

- Un risultato **"non reattivo"** (rapporto < 1,0) indica che il campione del paziente non è reattivo e che l' HBsAg non è presente nel campione.
- Quando HBsAg è utilizzato come dosaggio a sé stante per lo screening di donne in gravidanza per identificare neonati a rischio di acquisire HBV durante il periodo perinatale, è necessario utilizzare un test supplementare quale il kit di conferma IMMULITE 2000 HBsAg per confermare il risultato, indipendentemente dal fatto che i risultati dei test reattivi siano superiori o inferiori a 100.
- Siccome tutti i dosaggi immunologici molto sensibili possono produrre, in casi rari, risultati erroneamente reattivo, è essenziale confermare i risultati prima di comunicare ai pazienti i risultati del dosaggio.

I risultati comunicati dal laboratorio al medico devono includere quanto segue: "I risultati seguenti sono stati ottenuti con il kit IMMULITE 2000 HBsAg EIA. I valori ottenuti con dosaggi di altre case produttrici non sono interscambiabili".

Valori Attesi

Individui con infezioni acute da virus dell'Epatite B presenteranno un aumento rapido ed una diminuzione rapida dei livelli rilevabili di HBsAg tra uno e quattro mesi dopo l'esposizione, di solito durante il decorso clinico della malattia. Negli adulti con infezioni acute, il 5–10% diventerà portatore cronico del virus.[1,4] Nei portatori cronici, non è stata osservata una diminuzione significativa nei livelli di HBsAg.

Limiti

I risultati del dosaggio devono essere considerati alla luce dell'anamnesi del paziente, della sintomologia e di altri risultati di laboratorio.

Campioni lipemici, emolizzati o molto contaminati possono produrre risultati errati.

Un risultato non reattivo non indica che il paziente non sia stato infettato dall'HBsAg. Il campione del paziente deve essere dosato per la presenza di altri marcatori sierologici.

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi *in vitro*. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988:34: 27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedi Tavole e Grafici per dati *rappresentativi* delle prestazioni del kit. I risultati sono espressi come rapporto segnale-cutoff. (Laddove non

diversamente specificato, tutti i dati sono stati generati su campioni di siero raccolti in provette senza gel separatore o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.)

Precisione: i campioni sono stati dosati in duplicato in 20 giorni, due sedute al giorno, per un totale di 40 sedute ed 80 replicati. (Vedi la Tabella “Precision”.)

Bilirubina: La presenza di bilirubina in concentrazioni fino a 400 mg/L non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Emolisi: Può causare un cambiamento dei valori. (Vedere le tabelle “Hemolysis”.)

Lipemia: Può causare un cambiamento dei valori. (Vedere le tabelle “Lipemia”.)

Tipo di Campione Alternativo: I campioni sono stati prelevati in provette semplici, eparinizzate, con citrato di sodio o vacutainer EDTA (n = 60). A 41 campioni è stato aggiunto HBsAg e si è quindi provveduto ad effettuare il dosaggio con il kit IMMULITE 2000 HBsAg. I risultati sono espressi come rapporto segnale-cutoff.

(Eparina) = 0,99 (Siero) + 1,93
r = 1,00

(Citrato di Sodio) = 0,96 (Siero) + 0,83
r = 1,00

(EDTA) = 0,98 (Siero) + 1,52
r = 1,00

Valore Medio*:*
219 (Siero)
218 (Eparina)
211 (Citrato di Sodio)
216 (EDTA)

Comparazione di Metodi 1: Il dosaggio è stato comparato al dosaggio Abbott AUSZYME MONOCLONAL, un dosaggio immunoenzimatico per l' HBsAg disponibile sul mercato, su 231 campioni di pazienti.

	IMMULITE 2000			
Abbott	Reattivo	Non reattivo	Sensibilità Relativa	Specificità Relativa
Reattivo	16	0		
Non reattivo	3	212	100%	99%

Correlazione: 99%

Comparazione di Metodi 2: Il kit IMMULITE 2000 HBsAg è stato paragonato all'immunodosaggio Elecsys HBsAg su 2438 campioni, costituiti da pannelli di sieroconversione, campioni potenzialmente crossreattivi, campioni provenienti da pazienti affetti da Epatite B (HBV) acuta o cronica, da donatori di sangue, pazienti ospedalizzati, e da campioni di routine. La tabella di seguito riportata presenta i risultati di questo studio.

	No. di campioni					
	HBsAg reattivo	HBsAg Non reattivo	Sensibilità	Specificità	PPV	NPV
IMMULITE 2000 HBsAg						
Reattivo	238	0				
Non reattivo	16	2184	93,7%	100%	100%	99,3%
Elecsys HBsAg						
Reattivo	254	0				
Non reattivo	0	2184	100%	100%	100%	100%

Comparazione di Metodi 3: Il kit IMMULITE 2000 HBsAg è stato paragonato all'immunodosaggio AxSYM HBsAg su 438 campioni, costituiti da pannelli di sieroconversione e campioni provenienti da pazienti affetti da Epatite B (HBV) cronica. La tabella di seguito riportata presenta i risultati di questo studio.

IMMULITE 2000	Reat	Reat	Non reat	Non reat	
AxSYM	Reat	Non reat	Reat	Non reat	Correlazione
sieroconversione (n = 340)	148	3	7	182	97,1%
infezione HBV cronica (n = 98)	98	0	0	0	100%
Totale (n = 438)	246	3	7	182	97,7%

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore Nazionale.

siemens.com/healthcare

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

IMMULITE 2000 HBsAg

Utilização: Para uso diagnóstico *in vitro* com os Analisadores dos Sistemas IMMULITE 2000 — para a detecção qualitativa do antigénio de superfície da hepatite B (HBsAg) no soro ou plasma (colhido com heparina, citrato de sódio e EDTA) humano, como auxiliar na determinação de infecções, crónica e aguda, pelo vírus da hepatite B.

Números de catálogo:
L2KHB1 (200 testes)

Código do teste: **HBS** Cor: **Laranja**

Sumário e explicação do teste

O vírus da hepatite B (HBV) é o único agente patógenico da família das hepatites virais associadas ao DNA e está dessiminado por todo o mundo. A distribuição da infecção por HBV varia por áreas geográficas e grupos da população. A transmissão do vírus é devida ao contacto parentérico através da troca de sangue ou produtos sanguíneos, contacto sexual e propagação perinatal da mãe para o recém-nascido[1,2]. As manifestações clínicas variam de infecções assintomáticas moderadas a hepatites fulminantes severas[1,2,3]. Mais de 90% de adultos infectados terão uma infecção aguda auto-limitada,[1] com icterícia e função hepática anormal. A recuperação ocorre sem nenhumas sequelas crónicas[1,2].

A doença crónica do fígado, uma condição na qual a infecção persiste por mais de 6 meses, uma sequela conhecida de uma infecção por hepatite B, é em geral progressiva[1,2]. O risco de desenvolver o estado de portador crónico é mais provável ser no seguimento duma infecção adquirida na infância do que na idade adulta[4,5]. Em portadores de HBV crónicos, não há provas de dano hepático contínuo[1,2], contudo, a infecção persiste e o portador mantém a capacidade de transmitir o vírus[2].

A disponibilidade de vacinas HBV recombinantes e a recomendação de imunização universal para recém-nascidos e outras pessoas de alto risco têm auxiliado na prevenção de infecções por HBV. Além disso, o tratamento com alfa-interferon para aliviar sintomas está disponível. Os resultados têm demonstrado respostas positivas para o tratamento em 40–50% de indivíduos seleccionados com hepatite B activa crónica[4,5].

A classificação de uma infecção por hepatite B requer a identificação de vários marcadores sorológicos expressos durante três fases (incubação, aguda e convalescente) da infecção. O primeiro marcador que surge no soro é o antigénio de superficie da hepatite B (HBsAg). A presença deste antigénio indica a existência de uma infecção por HBV, e é detectável em portadores crónicos e doentes em estado agudo[1,2,4].

Princípio do procedimento

O IMMULITE 2000 HBsAG é um ensaio em fase sólida de quimioluminiscência de dois passos. A fase sólida, uma esfera de poliestireno inserida na tubo de reacção e revestida de anticorpo contra o antigenio de superfície da hepatite B (anti-HBs).

A Amostra do doente é adicionada á tubo de reacção contendo a esfera revestida. O anticorpo anti-HBs, marcado com fosfatase alcalina, é adicionado á tubo de reacção. Depois de um passo de lavagem e incubação, há uma hidrólise do substrato quimioluminiscente na presença de fosfatase alcalina. A libertação de fotões, medida pelo luminometro, está relacionada com a presença de HBsAg na amostra.

Ciclos de incubação: 2 × 30 minutos
Tempo para o Primeiro Resultado: 65 minutos

Colheita

A lipemia pode interferir com a análise. Uma ultracentrífugação é recomendada para clarificar amostras lipémicas.

Amostras hemolisadas podem indicar tratamento incorrecto de um espécime 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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 HBsAg não foram ainda testados com todas as possiveis 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: 100 µl soro o plasma (colhido com heparina, citrato de sódio e EDTA).

Conservação: 2 dias à temperatura ambiente (15–28°C) [8].
3 dias a 2–8°C[6,8].
Para periodos mais longos: a –20°C[7].

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.



PRECAUÇÃO! POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO
Contém material de origem humana. Cada dádiva de sangue ou componente de sangue humano foi testada pelos métodos aprovados pela FDA quanto à presença de anticorpos dos vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e tipo 2 (VIH-2), bem como do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e dos anticorpos do vírus da hepatite C (VHC). Os resultados dos testes foram negativos (não repetidamente reativos). Nenhum teste oferece total garantia de que estes ou outros agentes infeciosos estejam ausentes; este material deve ser manuseado de acordo com as boas práticas laboratoriais e precauções universais[8-10].

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as normas aplicadas.

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.

O Ajuste, os Controlos Positivos de HBsAg e Positivos Baixos de HBsAg contêm HBsAg que foram inactivados por métodos comprovados e documentados. Contudo, lide sempre com todos os controlos como se fossem capazes de transmitir agentes infecciosos.

Os resultados HBsAg determinados para uma dada amostra com doseamento de diferentes fabricantes podem variar devido a diferenças nos métodos de análise e especificidade de reagente. Contudo, os resultados reportados pelo laboratório ao médico devem incluir: “Os seguintes resultados foram obtidos com IMMULITE 2000 HBsAg EIA. Os resultados obtidos de métodos de doseamento de outros fabricantes não podem ser usados em permutação.

Substrato quimioluminescente: Evite contaminação e exposição directa à luz (ver bula).

Água: Utilize água destilada ou desionizada.

Materiais fornecidos

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. As etiquetas no interior das caixas são necessárias para o ensaio.

Embalagem de pérolas de HBsAg (L2HB12)
Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com anticorpo anti-HBs monoclonal murino. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KHB2: 1 embalagem

Embalagem de Reagente de HBsAg (L2HBA2)
Com código de barras. 11,5 mL de um tampão baseado em proteína, com conservante. 11,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugada com anti-HBs policlonal de cabra tamponizado, com conservante. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KHB2: 1 embalagem

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.

Ajuste de HBsAg (LHBR)
4 mL de HBsAg de soro humano inactivado, com conservante. O Ajuste funciona como o interruptor. Estável, após a abertura, durante 14 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KHB2: 1 frasco

Controlos de HBsAg (LHBC1, LHBC2, LHBC3)
3 frascos (8 mL cada). **LHBC1 (Controlo Negativo):** soro humano sem HBsAg, com conservante. **LHBC2, LHBC3 (Controlo Positivo Baixo, Controlo Positivo):** soro humano com HBsAg inactivado, com conservante. Estável, após a abertura, durante 14 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KHB2: 1 conjunto

Para os valores actuais de proporção de controlo, consulte o folheto incluso de Controlo.

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas de alíquota apropriadas (fornecidas com o “kit”) em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente

L2SUBM: Substrato quiomioluminescente
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

Ter em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000.

Consultar o Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000 relativamente aos procedimentos de preparação, diluição, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes: 4 semanas

Amostras de controlo de qualidade: O(s) controlo(s) fornecido(s) com o kit devem ser utilizados como material de controlo de qualidade para monitorizar o desempenho do doseamento na faixa de interrupção.

Para os valores actuais de proporção de controlo, consulte o folheto incluso de Controlo.

Calculo do Cutoff e da razão Amostra/CO: O Cutoff do ensaio foi determinado a partir de amostras representativas de modo a obter-se uma sensibilidade e especificidade óptima.

O valor do Cutoff é igual à média das contagens por segundo (média de cps) do Ajuste (do ajuste mais recente) multiplicado pelo parâmetro 1 da curva. (Veja os campos “CPS do Ajuste Baixo” e “Parâmetro 1 da Curva ” no ecrã de Informação do kit IMMULITE 2000, a que pode aceder-se no menu pela Entrada de Dados: Entrada do Kit)

O calculo da razão sinal da amostra/CO é feita usando a seguinte fórmula:

$$\text{Razão S/CO} = \frac{\text{Cps das amostras ou controlos}}{\text{Cps da média do Ajuste} \times \text{P1}}$$

Os cálculos qualitativos (reactivo / não reactivo) e a razão S/CO são efectuados automáticamente pelo IMMULITE 2000.

O resultado é “reactivo” se a contagem da amostra estiver acima do valor do Cutoff, e "não reactivo" se estiver abaixo deste valor.

Interpretação dos Resultados

- Um resultado **“Reactivo”** (razão ≥ 1,0) indica que o HBsAg está presente e foi detectado na amostra do doente. Amostras inicialmente reactivas para HBsAg devem ser novamente ensaiadas em duplicado para verificar que o resultado inicial se repete.

  Se pelo menos dois de três resultados de rácios são ≥ 100 para uma amostra individual, a amostra do doente pode ser reportada como reactiva e não requer nova determinação com o teste Confirmatório IMMULITE 2000 HBsAg (L2KCH).

  Se pelo menos dois de três resultados de rácios são reactivos, com rácios < 100, a amostra do doente deve ser testada usando o teste Confirmatório IMMULITE 2000 HBsAg (L2KCH), um procedimento para confirmar a presença de HBsAg baseado na neutralização do HBsAg da amostra reactiva com anti-HBs.Essas amostras com rácios iniciais e repetidos ≥ 1,0 e < 100, no qual o HBsAg é neutralizado pelo procedimento do teste confirmatório, são consideradas confirmadas reactivas para o HBsAg. É fundamental que os resultados sejam confirmados antes do doente ser informado do resultado.

  Se nenhum dos duplicados da amostra redoseados for reactivo, a amostra do doente deve ser considerada não reactivo para HBsAg.

- Um resultado **“Não reactivo”** (razão < 1,0) indica que o HBsAg não está presente e não foi detectado na amostra do doente.

- Quando HBsAg é usado como resultado isolado para despiste na mulher grávida, para identificar neonatos que estarão em risco de adquirir VHB durante o período perinatal, testes suplementares como o Kit IMMULITE 2000 HBsAg confirmatório devem ser utilizados para confirmar um resultado reactivo, apesar de os rácios poderem estar acima ou abaixo de 100.

- Como todos os imunodoseamentos altamente sensíveis podem produzir resultados falsos reactivos em casos raros, é essencial que os resultados sejam confirmados antes que os doentes sejam informados dos resultados do teste.

Os resultados reportados pelo laboratório ao médico devem incluir: “Os seguintes resultados foram obtidos com IMMULITE 2000 HBsAg EIA. Os resultados obtidos de métodos de doseamento de outros fabricantes não podem ser usados em permutação.”

Valores de Referência

Os indivíduos portadores de infecções agudas com o vírus da hepatite B exibem uma elevação e um declínio rápido dos níveis detectáveis de HBsAg entre um e quatro meses após a exposição; geralmente no decurso da doença. Dos adultos portadores de infecções agudas, 5–10% tornar-se-ão portadores crónicos do vírus[1,4]. Nos portadores crónicos, não se observa nenhuma diminuição significativa no nível de HBsAg

Limitações

Os resultados do teste devem ser considerados dentro do contexto da história clínica e sintomatologia do doente, e outras constatações do laboratório.

Amostras lipémicas, hemolizadas e severamente contaminadas podem fornecer resultados errados.

Um resultado não reactivo não indica que o paciente não foi infectado com HBV: a amostra do paciente deve ser testada quanto à presença de outros marcadores sorológicos.

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 apresentados pela razão sinal da amostra – Cutoff. 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.

Precisão: As amostras foram doseadas em duplicado durante 20 dias, 2 ensaios por dia, perfazendo um total de 40 ensaios e 80 réplicas. (Ver a tabela de "Precision".)

Bilirrubina: A presença de bilirrubina em concentrações até 400 mg/L não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Hemólise: Hemólise podem causar uma alteração nos valores. (Vejas a tabela "Hemolysis".)

Lipemia: Lipemia podem causar uma alteração nos valores. (Vejas a tabela "Lipemia".)

Tipo de amostra alternativa: As amostras foram extraídas para tubos de contenção a vácuo EDTA, heparinizados, citrato de sódio e simples (n = 60) A 41 amostras foi adicionado HBsAg e todas foram testadas com o IMMULITE 2000 HBsAg. Os resultados são apresentados pela razão sinal da amostra – Cutoff.

(Heparin) = 0,99 (Soro) + 1,93
r = 1,00

(Citrato de sódio) = 0,96 (Soro) + 0,83
r = 1,00

(EDTA) = 0,98 (Soro) + 1,52
r = 1,00

Médias*:*
219 (Soro)
218 (Heparin)
211 (Citrato de sódio)
216 (EDTA)

Comparação de Métodos 1:
O doseamento foi comparado com Abbott AUSZYME MONOCLONAL, um imunodoseamento de enzimas disponível comercialmente para HBsAg, em 231 amostras de doentes.

IMMULITE 2000

Abbott	React	Não react	Sensibilidade relativa	Especificidade
Reactivo	16	0		
Não reactivo	3	212	100%	99%

Correlacção: 99%

Comparação de Métodos 2:
O IMMULITE 2000 HBsAg foi comparado com o imunoensaio Elecsys HBsAg em 2438 amostras, que incluiam paineis de seroconversão, amostras capazes de provocar reacções cruzadas, amostras de doentes com infecção por HBV na fase aguda e crónica, de dadores de sangue, doentes hospitalizados e amostras de rotina. A tabela seguinte mostra os resultados deste estudo.

	No. de Amostras					
	HBsAg Reactivo	HBsAg Não reactivo	Sensibilidade	Especificidade	PPV	NPV
IMMULITE 2000 HBsAg						
Reactivo	238	0				
Não reactivo	16	2184	93,7%	100%	100%	99,3%
Elecsys HBsAg						
Reactivo	254	0				
Não reactivo	0	2184	100%	100%	100%	100%

Comparação de Métodos 3:
O IMMULITE 2000 HBsAg foi comparado com o imunoensaio AxSYM HBsAg em 438 amostras, que incluiam paineis de seroconversão e amostras de doentes com infecção por HBV na fase crónica. A tabela seguinte mostra os resultados deste estudo.

IMMULITE 2000	Reac	Reac	Não reac	Não reac	
AxSYM	Reac	Não reac	Reac	Não reac	Correlacção
Seroconversão (n = 340)	148	3	7	182	97,1%
Infecção por HBV na fase crónica (n = 98)	98	0	0	0	100%
Total (n = 438)	246	3	7	182	97,7%

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

siemens.com/healthcare

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE is a trademark of Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2019 Siemens Healthcare Diagnostics. All rights reserved.

Made in: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

CE 0197

2019-07-16

PIL2KHB – 42

cc#EU23606, cc#EU23606A

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol Definition

IVD

En: *In vitro* diagnostic medical device
De: Medizinisches Gerät zur *In-vitro* Diagnose
Es: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
Fr: Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
It: Dispositivo medico per diagnostica *in vitro*
Pt: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

REF

En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo

En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante

EC REP

En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia

Symbol Definition

En: CE Mark
De: CE-Kennzeichen
Es: Marca CE
Fr: Marque CE
It: Marchio CE
Pt: Marca CE

En: CE Mark with identification number of notified body
De: CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle
Es: Marca CE con número de identificación del organismo notificado
Fr: Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié
It: Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato
Pt: Marca CE, com número de identificação do organismo notificado

En: Consult instructions for use
De: Bedienungshinweise beachten
Es: Consulte las instrucciones de uso
Fr: Consulter le mode d'emploi
It: Consultare le istruzioni per l'uso
Pt: Consulte as instruções de utilização

En: Caution! Potential Biohazard
De: Vorsicht! Biologisches Risikomaterial
Es: ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial
Fr: Avertissement ! Risque biologique potentiel
It: Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico
Pt: Atenção! Potenciais Riscos Biológicos

En: Temperature limitation (2–8°C)
De: Temperaturgrenze (2–8°C)
Es: Limitación de temperatura (2–8°C)
Fr: Limites de température (2–8°C)
It: Limiti di temperatura (2–8°C)
Pt: Limites de temperatura (2–8°C)

Symbol Definition

En: Upper limit of temperature (≤ -20°C)
De: Obere Temperaturgrenze (≤ -20°C)
Es: Límite superior de temperatura (≤ -20°C)
Fr: Limite supérieure de température (≤ -20°C)
It: Limite superiore di temperatura (≤ -20°C)
Pt: Limite máximo de temperatura (≤ -20°C)

En: Lower limit of temperature (≥ 2°C)
De: Mindesttemperatur (≥ 2°C)
Es: Límite inferior de temperatura (≥ 2°C)
Fr: Limite inférieure de température (≥ 2°C)
It: Limite inferiore di temperatura (≥ 2°C)
Pt: Limite mínimo de temperatura (≥ 2°C)

En: Do not freeze (> 0°C)
De: Nicht einfrieren (> 0°C)
Es: No congelar (> 0°C)
Fr: Ne pas congeler (> 0°C)
It: Non congelare (> 0°C)
Pt: Não congelar (> 0°C)

En: Do not reuse
De: Nicht zur Wiederverwendung
Es: No reutilizar
Fr: Ne pas réutiliser
It: Non riutilizzare
Pt: Não reutilizar

En: Keep away from sunlight
De: Vor Sonneneinstrahlung schützen
Es: Proteger de la luz solar
Fr: Maintenir hors de portée de la lumière du soleil
It: Non esporre alla luce del sole
Pt: Manter afastado da luz solar

En: Batch code
De: Chargenbezeichnung
Es: Número de lote
Fr: Numéro de code du lot
It: Codice lotto
Pt: Código de lote

Symbol	Definition
	**En:** Contains sufficient for (n) tests **De:** Es reicht für (n) Tests **Es:** Contiene suficiente para (n) pruebas **Fr:** Contient du matériel suffisant pour (n) tests **It:** Contiene materiale sufficiente per (n) test **Pt:** Contém o suficiente para (n) testes
2008-01	**En:** Date format (year-month) **De:** Datumsformat (Jahr-Monat) **Es:** Formato de fecha (año-mes) **Fr:** Format de la date (année-mois) **It:** Formato data (anno-mese) **Pt:** Formato de data (ano-mês)
	**En:** Use by **De:** Verwendbar bis **Es:** Fecha de caducidad **Fr:** A utiliser avant **It:** Usare entro **Pt:** Usar até
	**En:** Health Hazard **De:** Gesundheitsgefährdung **Es:** Peligro para la salud **Fr:** Dangereux pour la santé **It:** Pericolo per la salute **Pt:** Perigo para a saúde
	**En:** Exclamation Mark **De:** Ausrufezeichen **Es:** Signo de exclamación **Fr:** Point d'exclamation **It:** Punto esclamativo **Pt:** Ponto de exclamação
	**En:** Corrosion **De:** Korrosion **Es:** Corrosión **Fr:** Corrosion **It:** Corrosione **Pt:** Corrosão
	**En:** Skull and Crossbones **De:** Totenkopf mit gekreuzten Knochen **Es:** Calavera y tibias cruzadas **Fr:** Tête de mort sur tibias croisés **It:** Teschio e tibie incrociate **Pt:** Caveira sobre tíbias cruzadas
	**En:** Environment **De:** Umwelt **Es:** Medio ambiente **Fr:** Environnement **It:** Ambiente **Pt:** Ambiente

Symbol	Definition
BEAD PACK	**En:** Bead Pack **De:** Kugel-Container **Es:** Cartucho de bolas **Fr:** Cartouche de billes **It:** Contenitore di biglie **Pt:** Embalagem de esferas
TEST UNIT	**En:** Test Unit **De:** Testeinheit **Es:** Unidades de análisis **Fr:** Unité de test **It:** Test Unit **Pt:** Unidades de Teste
REAG WEDGE **REAG WEDGE A** **REAG WEDGE B** **REAG WEDGE D**	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste

Symbol	Definition
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL CONTROL 1 CONTROL 2 CONTROL 3	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo

Symbol	Definition
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

Herpes I & II IgG

For the Qualitative Detection of IgG Antibodies to Herpes simplex I and II Virus in Human Serum

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 Herpes I & II IgG

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE 2000 Systems Analyzers — for the qualitative detection of IgG antibodies to herpes simplex virus (HSV) types I and II in human serum, as an aid in determination of serological status to HSV I & II.

Catalog Number: **L2KHVG6** (600 tests)

Test Code: **HVG** Color: **Dark Pink**

Summary and Explanation

Herpes simplex virus (HSV) is an ancient and ubiquitous virus, known to cause acute and recurrent infections in humans. The virus enters the mucous membranes (ocular, genital or oral) and replicates locally.[4,6] Infection of neonates during passage through the birth canal may result in neurological damage and death.[5] In a small portion of infected individuals, the virus may enter the sensory root ganglion, resulting in latent, recurrent infections.[1]

In the 1960s it was recognized that HSV consisted of two distinct types, HSV-I and HSV-II. HSV-I is considered to be primarily associated with ocular and oral infection, while HSV-II is considered to be a genital infection.[6] However, HSV types I and II share several common antigens, and the use of specific monoclonal antibodies or restriction endonuclease mapping may be required to type individual strains.[2,7]

Infections with HSV type I or type II can differ in their clinical manifestations and severity. The immune response of the host can play an important role in controlling the severity of primary or reactivated infections. Those at highest risk are neonates, who contact the infection during passage through the birth canal, and immunocompromised patients.[3]

While isolation of the virus in tissue culture is recommended for the diagnosis of active infections, serological testing can provide valuable information in the management of at-risk populations, such as pregnant women.

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 Herpes I & II IgG is a solid phase, two-step chemiluminescent enzyme-labeled 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.

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 Herpes I & II IgG 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: 10 µL serum.

Storage: 3 days at 2–8°C or for 6 months at –20°C.[11]

Automatic Predilution Factor: 20.

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.



CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD
Contains human source material. Each donation of human blood or blood component was tested by FDA-approved methods for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) as well as for hepatitis B surface

antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis C virus (HCV). The test results were negative (not repeatedly reactive). No test offers complete assurance that these or other infectious agents are absent; this material should be handled using good laboratory practices and universal precautions.[12-14]

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.

Reagents: Store at 2–8°C. Dispose of in accordance with applicable laws.

The bead is coated with *inactivated* HSV I & II viral antigen. However, caution is advised because of the possible presence of residual virus when working with, or disposing of, the materials supplied.

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.

The anti-HSV I & II IgG results determined for a given specimen with assays from different manufacturers can vary due to differences in assay methods and reagent specificity. Therefore, the results reported by the laboratory to the physician should include: "The following results were obtained with the IMMULITE 2000 Herpes I & II IgG EIA. Results obtained from other manufacturers' assay methods may not be used interchangeably."

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.

Herpes I & II IgG Bead Pack (L2HVG12)
With barcode. 200 beads, coated with HSV type I antigen (strain MacIntyre) and HSV type II antigen (G strain) (both antigens are partially purified, from infected cell lysates). Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KHVG6: 3 packs.

Herpes I & II IgG Reagent Wedge (L2HVGA2)
With barcode. 11.5 mL buffer solution. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to anti-human IgG antibody in buffer. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KHVG6: 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.

Herpes I & II IgG Adjustor (LHVGR)
4 mL of human serum with IgG reactive to HSV I & II, in buffer, with preservative. The Adjustor serves as the assay's Cutoff. Stable at 2–8°C for 14 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KHVG6: 2 vials.

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.

Herpes I & II IgG Controls (LHVGC1, LHVGC2)
LHVGC1 (Negative Control): 2.0 mL negative control containing human serum with IgG nonreactive to HSV I and II, with preservative. **LHVGC2 (Positive Control):** 2.0 mL positive control containing human serum with IgG reactive to HSV I and II, with preservative. Stable at 2–8°C for 14 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KHVG6: 2 sets.

The IMMULITE 2000 software performs automatic on-board dilution of control samples, and the results will be tracked in the QC database. Enter controls as controls.

For the current control ratio ranges, please refer to the Control insert.

IgG/IgM Sample Diluent (L2IGZ2)
For the on-board dilution of patient samples and controls. 55 mL concentrated (ready-to-use) nonhuman protein/buffer matrix, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KHVG6: 1 vial.

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.
L2KHVG6: 5 labels.

Kit Components Supplied Separately

IgG/IgM Sample Diluent (L2IGZ2)
For the on-board dilution of patient samples and controls. 55 mL concentrated (ready-to-use) nonhuman protein/buffer matrix, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2IGZ2: 1 vial.

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.
L2IGZ2: 5 labels

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate
L2PWSM: Probe Wash
L2KPM: Probe Cleaning Kit
LRXT: Reaction Tubes (disposable)
L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

Also Required
Sample transfer pipets; distilled or deionized water.

Assay Procedure

See the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual.

Recommended Adjustment Interval:
4 weeks.

Quality Control Samples: The Herpes I & II IgG Controls supplied with the kit should be used as quality control material to monitor the performance of the assay at the cutoff range. The Positive Control is used to validate the IMMULITE 2000 Herpes I & II IgG assay at a critical level when determining the serological status of a patient.

For the current control ratio ranges, please refer to the Control insert.

Additional controls may be tested in accordance with guidelines or requirements of local, state and/or federal regulations or accrediting organizations.

If the Herpes I & II IgG Controls do not yield their expected results, then readjustment is indicated providing other means of assessing and correcting the unacceptable control results have failed to identify and correct the problem. The procedure for readjustment and for assessing and correcting unacceptable control results is described in detail in the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual.

Patient results should not be reported unless QC results are acceptable. If QC results are unacceptable, the patient samples from that run should be repeated.

Calculation of Cutoff and S/CO Ratio:
The Master Cutoff of the assay was determined from representative samples to achieve optimal sensitivity and specificity for the assay.

The cutoff is set equal to the average counts per second (mean cps) of the Adjustor (from the most recent adjustment) multiplied by Curve Parameter 1. (See the "Low Adjustor CPS" and "Curve Parameter 1" fields in the IMMULITE 2000 Kit Information screen, which can be accessed from the menu via Data Entry: Kit Entry.)

Calculation of a signal/cutoff (s/co) ratio is done by using the following formula:

$$\text{S/CO Ratio} = \frac{\text{Sample or Control cps}}{\text{Mean Adjustor cps} \times \text{P1}}$$

Calculation and reporting of qualitative results (reactive / nonreactive / indeterminate) and s/co ratio results are handled automatically by the IMMULITE 2000.

The result for a sample is reported as “Indeterminate” if the counts per second for that sample fall within ±10% of the cutoff. The result is reported as “reactive” if the sample's counts are *above* the indeterminate range, and “nonreactive” if *below* this range.

Interpretation of Results

- A result of **"Reactive"** (ratio of ≥1.1) indicates that IgG antibodies to HSV I & II were detected in the patient sample. (The assay does not differentiate between antibodies to HSV I or HSV II.)
- A result of **"Nonreactive"** (ratio of <0.9) indicates that IgG antibodies to HSV I & II were not detected in the patient sample.
- Any result of **"Indeterminate"** (ratio between 0.9 and <1.1) should be retested. Samples which still test as "Indeterminate" should be tested by an alternate method, or a second sample should be taken — if possible — within a reasonable period of time (e.g., one week).

The presence of IgG antibodies to HSV I or II is an indication of previous exposure to the virus. A single specimen can only be used to estimate the serological status of the individual.

The magnitude of the measured results (cps) above the Cutoff is not indicative of the total amount of antibodies detected.

Expected Values

Individuals infected with HSV I or II may not exhibit detectable levels of IgG antibody in the early stages of infection. Levels of IgG antibody to HSV begin to rise one or two weeks after primary infection. Peak levels are reached in 6 to 8 weeks, then gradually decline with time. Antibody levels may decrease to undetectable levels between periods of reactivation; hence, a patient may have a result of "Nonreactive" despite prior exposure to the virus.[1,3,6] Reactivation of the virus may or may not result in a detectable level of antibodies in the IMMULITE 2000 Herpes I & II IgG assay.

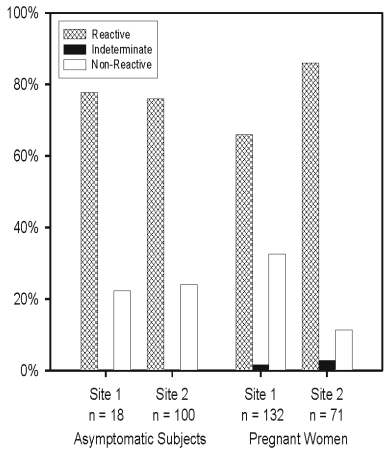
Prevalence may vary due to geographical or population differences. Therefore, each laboratory should establish its own reference ranges.

Studies with presumed healthy, asymptomatic subjects were conducted with the IMMULITE Herpes I & II IgG assay at two locations in the US. At one location (Site 1) in the northwestern US, the subjects consisted of 18 individuals undergoing a pre-employment screening (10 females and 8 males), with ages ranging from 26 to 42 years (samples were stored at 2–8°C if the assay was performed within 4 days, otherwise samples were frozen at –20°C). At a second location in the southwestern US, the subjects consisted of 100 blood donors (54 females and 46 males), with ages ranging from 17 to 71 years (samples were collected and frozen).

The prevalence of HSV I & II reactivity was found to be 78% (Site 1) and 76% (Site 2) in these two distinct geographical locations in the United States.

These study sites also included 132 (Site 1) and 71 (Site 2) pregnant women, with ages ranging from 16 to 43 years (Site1) and from 14 to 48 years (Site 2). The prevalence of HSV I & II reactivity in this specific population at these two sites was 66% and 86%, respectively.

These prevalences are similar to those reported in the literature.[9] However, prevalence may vary due to geographical or population differences. The distribution of patients in the two populations from these two independent sites is presented in the chart below.



Limitations

The results of the test must be taken within the context of the patient's clinical history, symptomology and other laboratory findings.

The presence of IgG antibodies in a single specimen is not sufficient to distinguish between active or past infection.

Primary or acute HSV infection should be confirmed by the culture of HSV from the patient.[6,7]

Patients suspected of having primary or active infection should be tested for the presence of IgM antibodies to HSV.

For the determination of seroconversion from *nonreactive* to *reactive*, two serum samples should be drawn three to four weeks apart, during the acute and convalescent stages of the infection. The acute phase sample should be stored and tested in parallel with the convalescent sample.

Individuals with acute HSV infection may not exhibit any detectable IgG antibodies at the early stage of infection.

A rise in HSV I & II IgG antibody level may occur in patients with varicella-zoster virus (VZV), Epstein-Barr Virus (EBV) or cytomegalovirus (CMV) infections due to antigenic crossreactivity within the herpesvirus family.

The results in HIV patients, in patients undergoing immunosuppressive therapy, or in patients with other disorders leading to immunosuppression, should be interpreted with caution.

The performance characteristics of this assay have not been established for use with specimens from neonates, cord blood, or pretransplant patients.

No prozone effect has been demonstrated by antibody levels approaching 100,000,000 cps.

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. Herpes I & II IgG results are expressed as a signal-to-cutoff ratio. Unless otherwise specified, all results were generated on serum samples collected in tubes without anticoagulants, gel barriers, or clot-promoting additives.

Precision: Samples were assayed in duplicate in 40 runs for a total of 80 replicates. (See “Precision” table.)

Specificity: Studies were conducted in-house to determine crossreactivity or interference which may occur when using the IMMULITE Herpes I & II IgG assay. Serum samples were obtained from reference laboratories and characterized by Indirect Fluorescent Assay (IFA) or Anti-Complement Immunofluorescence (ACIF) as containing IgG antibodies to herpesviruses, including cytomegalovirus (CMV), varicella-zoster virus (VZV), Epstein-Barr virus (EBV), as well as *Mycoplasma pneumoniae*, and parvovirus B19. Ten samples of each type were assayed using the IMMULITE Herpes I & II IgG kit and commercially available HSV I and HSV II IgG assay kits (Kit C). Due to the high incidence of HSV I and HSV II in the general population, crossreactivity studies utilizing *only* nonreactive HSV I and HSV II serum samples were not performed.

The results indicate that approximately 70 to 80% of the samples were reactive for HSV I & II, reflecting the high reactivity rate (up to 80%) in the adult population.[10] It is possible that the additional 20% reactive rate shown in the table below is due to cross-reactions. (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 539 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 20 volunteers into plain, heparinized, EDTA and Becton Dickinson SST® vacutainer tubes. All samples were assayed by the IMMULITE 2000 Herpes IgG procedure, with the following results.

(Heparin) = 0.96 (Serum) + 0.64
r = 0.990

(SST) = 0.94 (Plain Tubes) + 0.68
r = 0.994

(EDTA) = 0.95 (Serum) + 0.42
r = 0.995

Means:
18.7 (Serum)
18.5 (Heparin)
18.3 (SST)
18.1 (EDTA)

Method Comparison: The assay was compared to IMMULITE Herpes I & II IgG using samples from 227 blood donors. All samples were freshly collected and frozen for analysis. Four samples fell close to the cutoff. (See “Method Comparison” table.)

Clinical Performance

Based on the correlation between the IMMULITE Herpes I & II IgG and IMMULITE 2000 Herpes I & II IgG assays (see Method Comparison), the customer can reasonably expect comparable clinical performance.

The clinical performance of the IMMULITE Herpes I & II IgG assay was studied in-house using a CMV/HSV proficiency panel obtained from the United States Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

The in-house retrospective study was conducted by assaying the CDC serum panel with the IMMULITE Herpes I & II IgG assay and sending the results to the CDC for unmasking. The results are presented as a means to convey further information on the performance of this assay with a masked, characterized serum panel. This does not imply an endorsement of the assay by the CDC.

The panel consisted of 72% reactive and 28% nonreactive samples. The IMMULITE Herpes I & II IgG assay demonstrated 97% total agreement with the CDC results. Of the results obtained in-house, there was 99% agreement with reactive specimens and 93% agreement with the nonreactive specimens.

Studies on the clinical performance of the IMMULITE Herpes I & II IgG assay and two other commercially available systems (Kit A and Kit B) were also conducted nonconcurrently at two independent sites.

Site 1

In a prospective clinical study conducted at a medical center located in the northwestern United States, a total of 200 serum specimens were tested. Of the 200 specimens, 18 were obtained from presumed healthy, asymptomatic individuals undergoing a pre-employment screening, 132 were obtained from pregnant women and the remainder were obtained from patients with miscellaneous diseases and conditions (AIDS, heart disease, immunocompromised, kidney transplant/dialysis). There were 33 male and 167 female subjects, with ages ranging from newborn to 73 years. All 200 samples were stored at 2–8°C if the assay was performed within 4 days, otherwise samples were frozen at –20°C.

All 200 specimens were evaluated with the IMMULITE Herpes I & II IgG procedure and Kit A, an HSV I & II IgG commercially available microplate enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

	IMMULITE Herpes I & II IgG		
Kit A	Reactive	Indeterminate	Nonreactive
Reactive	139	1	0
Indeterminate	0	0	1
Nonreactive	2	1	56

Agreement: 99.0%

Two specimens were identified as indeterminate by IMMULITE Herpes I & II IgG, and one by Kit A.

The two discrepant cases were repeated with both IMMULITE Herpes I & II IgG and Kit A, with the repeat results remaining the same as those obtained in the initial testing.

Site 2

In the second outside prospective clinical study conducted at a university clinical virology laboratory in the southwestern United States, a total of 202 serum specimens were tested. Of the 202 specimens, 100 were from presumed healthy, asymptomatic individuals (blood donors), 71 were from pregnant women undergoing rubella screening and 31 were from patients undergoing infectious disease serological screening (rubella, CMV, toxoplasma, AIDS). There were 57 male and 145 female subjects, with ages ranging from 2 days to 71 years.

All 202 specimens (previously collected and frozen by the investigators) were evaluated with the IMMULITE Herpes I & II IgG procedure and Kit A, an HSV I & II IgG commercially available microplate enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

	IMMULITE Herpes I & II IgG		
Kit A	Reactive	Indeterminate	Nonreactive
Reactive	153	0	6
Indeterminate	1	0	0
Nonreactive	2	3	37

Agreement: 96.0%

Four specimens were identified as indeterminate either by IMMULITE or by Kit A.

The eight discrepant cases were investigated by repeat assays with both IMMULITE Herpes I & II IgG and Kit A, and a third method, Kit B (a commercially available microplate ELISA kit). IMMULITE repeat tests confirmed the initial IMMULITE results for 7/8 discrepant cases. Kit A repeat tests confirmed 4/8 initial Kit A results. The third method, Kit B, agreed with 2/8 discrepant IMMULITE cases and agreed with Kit A in 6/8 discrepant cases. The four indeterminate cases were also repeated with the initial method that gave the indeterminate results. The repeat testing resolved the indeterminate status of these four cases, and IMMULITE Herpes I & II IgG was in agreement with Kit A in 3/4 cases.

References

1) Adam E. Herpes virus infection. In: Glaser R, Gotlieb-Stematski R, editors. Human herpesvirus infections. New York: Marcel Dekker, 1982: 1–55. 2) Goldstein LC, Corey L, McDougall JK, Tolentino E, Nowinski RC. Monoclonal antibodies to herpes simplex virus: use in antigenic typing and rapid diagnosis. J Infect Dis 1983;147(5):829–37. 3) Lycke E, Jeansson S. Herpesviridae: Herpes simplex virus. In: Laboratory diagnosis of infectious diseases: principles and practice. Vol II. Viral, rickettsial, and chlamydial diseases. New York: Springer-Verlag, 1988. 4) Moseley RC, Corey L, Benjamen D, Winter C, Remington ML. Comparison of virus isolation, direct immunofluorescence and indirect immunoperoxidase techniques for detection of genital herpes simplex virus infection. J Clin Microbiol 1981;13:913–19. 5) Smith IW, JF Peutherer. Immunological diagnosis of herpes simplex virus. In: Young H, McMillan A, editors. Immunological diagnosis of sexually transmitted disease. New York: Marcel Dekker, 1988: 371–401. 6) Stagno S, Whitely RJ. Current concepts: herpes virus infections of pregnancy. N Engl J Med 1985;313:1270–4, 1327–30. 7) Zhao L, Landry ML, Balkovic ES, Hsiung GD. Impact of cell culture sensitivity and virus concentration on rapid detection of herpes simplex virus by cytopathic effects and immunoperoxidase staining. J Clin Microbiol 1987;25(8):1401–5. 8) 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. 9) Baltz ML, Searcy RL. Clinical significance and advanced serologic diagnosis of ToRCH infections. Am Clin Lab 1994;March/April:18-23. 10) Arvin AM, Prober CG. Herpes simplex viruses. In: Murray PR, et al, editors. Manual of clinical microbiology, 6th ed. Washington, DC: ASM Press, 1995: 876–83. 11) Tietz NW, editor. Clinical guide to laboratory tests. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1995:358.
12) Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. MMWR, 1988;37:377–82, 387–8. 13) Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3. 14) Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030.

Technical Assistance

In the United States, contact Siemens Healthcare Diagnostics Technical Services department. Tel: 877.229.3711. Outside the United States, contact your National Distributor.

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

Precision (ratio)

		Within-Run[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	0.24	0.03	12.5%	0.04	16.7%
2	0.25	0.07	28.0%	0.07	28.0%
3	0.85	0.06	7.1%	0.14	16.5%
4	1.01	0.05	5.0%	0.07	6.9%
5	1.24	0.17	13.7%	0.25	20.2%
6	2.03	0.16	7.9%	0.22	10.8%
7	2.26	0.11	4.9%	0.15	6.6%
8	45.7	2.44	5.3%	5.00	10.9%

Method Comparison

	IML 2000		
IML	Reactive[1]	Indeterm[2]	Non-reactive[3]
Reactive	167	0	0
Indeterm	0	2	0
Nonreactive	0	2	56

Agreement: 99.1%[4]

Specificity

	Number Tested[1]	Reactive to HSV I & II[2]	
Sample Reactive To:[3]	*n*[4]	By IML[5]	By Kit C[6]
Cytomegalovirus (CMV)	10	2	3
Varicella-Zoster Virus (VZV)	10	8	9
Epstein-Barr Virus (EBV)	10	7	10
Mycoplasma pneumoniae	10	9	9
Parvovirus B19	10	8	7

Deutsch. **Precision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]S (Standardabweichung), [5]CV (Variationskoeffizient). **Method Comparison:** [1]Reaktiv, [2]Grenzwertig, [3]Nicht-reaktiv, [4]Übereinstimmung. **Specificity:** [1]Anzahl getesteter Proben, [2]Reaktiv gegen HSV I & II, [3]Probe reaktiv gegen, [4]Anzahl, [5]mit IMMULITE, [6]mit Kit C.

Español. **Precision**: [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV. **Method Comparison:** [1]Reactivo, [2]Indeterminado, [3]No reactivo, [4]Concordancia. **Specificity:** [1]Muestras analizadas, [2]Reactivo frente a HSV I y II, [3]Muestra reactiva frente a, [4]n, [5]Por IMMULITE, [6]Por el Kit C.

Français. **Precision**: [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]SD, [5]CV. **Method Comparison:** [1]Réactif, [2]Indéterminé, [3]Non réactif, [4]Concordance. **Specificity:** [1]Nombre testé, [2]Réactif à HSV I & II, [3]Echantillon réactif à, [4]*n*, [5]Avec IMMULITE, [6]Avec Kit C.

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione). **Method Comparison:** [1]Reattivo, [2]Indeterminato, [3]Non reattivo, [4]Correlazione. **Specificity:** [1]Numero campioni testati, [2]Reattivo all'HSV I & II, [3]Campioni Reattivi A, [4]n, [5]Con IMMULITE, [6]Con il Kit C.

Português. **Precision**: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação. **Method Comparison:** [1]Reactivo, [2]Indeterminado, [3]Não reactivo, [4]Concordancia. **Specificity:** [1]Número de Testes, [2]Reactivo para HSV I & II, [3*A]Amostra Reactiva A, [4]n, [5]Pelo IMMULITE, [6]Pelo Dispositivo C.

Deutsch

Herpes I und II IgG

Anwendung: Zur in vitro-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme — für den qualitativen Nachweis von IgG Antikörpern gegen Herpes simplex virus (HSV) Typ I und II in humanem Serum, als Hilfsmittel zur Bestimmung des serologischen Status gegen HSV I & II.

Artikelnummern: **L2KHVG6** (600 Tests)

Testcode: **HVG** Farbe: **dunkelrosa**

Klinische Relevanz

Herpes simplex Viren (HSV) kommen ubiquitär vor und führen beim Menschen zu akuten und wiederholt reaktivierten Virusinfektionen. Die Viren befallen die Schleimhäute der Augen, im Mund und im Genitalbereich, wo sie sich local vermehren. [4,6] Infizieren sich Neugeborene während der Passage des Geburtskanals, so kann dies zu neurologischen Schädigungen oder sogar zum Tod führen.[5] Bei einem kleinen Teil der infizierten Personen siedeln die Viren in den Ganglien und führen so zu latenten und rezidivierenden Infektionen.[1]

Forschungsergebnisse der 60er Jahre zeigten, dass die Herpesviren in zwei Typen, HSV I und HSV II unterschieden werden können. So ist HSV I vorwiegend mit Infektionen der Augen und des Mundes assoziert, während HSV II überwiegend für Infektionen des Genitaltraktes verantwortlich ist. HSV I und HSV II besitzen mehrere gemeinsame antigene Determinanten, so dass zur individuellen Stammtypisierung die Verwendung von hochspezifischen monoklonalen Antikörpern oder die Kartierung mittels Restriktionsendonukleasen erforderlich ist.[2,7]

Infektionen mit HSV I oder HSV II können sich hinsichtlich ihrer klinischen Manifestationen und der Schwere der Erkrankung unterscheiden. Dabei ist der Immunstatus des Patienten von entscheidender Bedeutung, insbesondere im Hinblick auf primäre oder reaktivierte Infektionen. Besonders gefährdet sind Neugeborene, die während der Passage durch den Geburtskanal infiziert wurden und immunschwache Patienten.[3]

Während die Isolierung des Virus in der Zellkultur bei der Diagnose von aktiven Infektionen angezeigt ist, so kann die Bestimmung des serologischen Status wertvolle Informationen bei der Behandlung von Risikopopulationen, wie z.B. Schwangeren, liefern.

Methodik

IMMULITE 2000 Herpes I & II IgG ist ein 2-Schritt-Festphasen-Chemilumineszens Immunassay.

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 zurückhaltend zu interpretieren.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter 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 Herpes I & II IgG sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 10 µl Serum.

Lagerung: 3 Tage bei 2–8°C oder 6 Monate bei –20°C.[11]

Faktor für automatische Vorverdünnung: 20.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *In-vitro*-Diagnostik.



VORSICHT! BIOLOGISCHES RISIKOMATERIAL
Enthält Material humanen Ursprungs. Alle Blutspenden oder Blutkomponenten menschlicher Herkunft wurden nach FDA-genehmigten Methoden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die HI-Viren Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2) sowie von Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und Antikörpern gegen den Hepatitis C-Virus (HCV) getestet. Die Testergebnisse waren negativ (nicht wiederholt reaktiv). Durch keinen Test kann das Vorhandensein dieser oder anderer infektiöser Stoffe vollständig ausgeschlossen werden. Dieses Material ist mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und gemäß der allgemein anerkannten guten Laborpraxis zu handhaben.[12-14]

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.

Reagenzien: Bei 2–8°C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die Kugeln sind mit inaktiviertem HSV I & II Virusantigen beschichtet. Wegen des potentiellen Vorhandenseins von Restviren ist beim Arbeiten mit den Reagenzien und beim Entsorgen der Materialien Vorsicht geboten.

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.

Unterschiede in der jeweiligen Methodik oder der Spezifität der Reagenzien können dazu führen, dass die mit Testsystemen von verschiedenen Herstellern ermittelten Ergebnisse für dieselben Proben nicht einheitlich sind. Die vom Labor an den Arzt gemeldeten Ergebnisse sollten folgenden Passus enthalten: „Die folgenden Ergebnisse wurden mit dem Immulite 2000 Herpes I & II IgG EIA ermittelt. Sie sind mit Ergebnissen aus Testsystemen anderer Hersteller nicht notwendigerweise vergleichbar."

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.

Herpes I & II IgG Kugel-Container (L2HVG12)
Mit Barcode. 200 Kugeln beschichtet mit HSV I Antigen (Stamm MacIntyre) und HSV II Antigen (G Stamm). Beide Antigene sind partiell gereinigt und stammen aus infizierten Zell-Lysaten. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KHVG6: 3 Container.

Herpes I & II IgG - Reagenzbehälter (L2HVGA2)
Mit Barcode. 11,5 ml Pufferlösung. 11,5 ml Alkalische Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugiert mit anti-human-IgG in Pufferlösung. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KHVG6: 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.

Herpes I & II IgG - Kalibrator (LHVGR)
4 ml Humanserum mit HSV I & II-reaktiven IgG in Pufferlösung (mit Konservierungsmittel). Die Kaibrator dient als Cutoff für den Assay. 14 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KHVG6: 2 Fläschchen.

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Teströhrchen kleben, so dass die Barcodes vom Barcodereader des Systems gelesen werden können.

Herpes I & II IgG Kontrollen (LHVGC1, LHVGC2)
LHVGC1 (Negativkontrolle): 2 ml Negativkontrolle, enthält Humanserum mit IgG nichtreaktiv gegen HSV I and II (mit Konservierungsmittel). **LHVGC2 (Positivkontrolle):** 2 ml Positivkontrolle, enthält Humanserum mit IgG reaktiv gegen HSV I & II (mit Konservierungsmittel). 14 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KHVG6: 2 Sets.

Die IMMULITE 2000 Software führt automatische on-board-Verdünnungen der Kontrollen durch. Diese können im Qualitätsprogramm rückverfolgt werden. Geben Sie die Kontrollen als Kontrollen ein.

Die aktuellen Bereiche für das Kontrollverhältnis entnehmen Sie bitte der Packungsbeilage zur Kontrolle.

IgG/IgM Probenverdünnungspuffer (L2IGZ2)
Zum automatischen Verdünnen der Patientenproben und Kontrollen. 55 ml Konzentriertes (gebrauchsfertig) nichthumane Protein/Puffermatrix mit Konservierungsmittel. 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KHVG6: 1 Fläsche.

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16×100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2KHVG6: 5 Etiketten.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

IgG/IgM Probenverdünnungspuffer (L2IGZ2)
Zum automatischen Verdünnen der Patientenproben und Kontrollen. 55 ml Konzentriertes (gebrauchsfertig) nichthumane Protein/Puffermatrix mit Konservierungsmittel. 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2IGZ2: 1 Fläsche.

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16×100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2IGZ2: 5 Etiketten.

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße
L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm) für die Probenverdünnung
L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

Ebenfalls benötigt
Transferpipetten für die Proben; destilliertes bzw. deionisiertes Wasser.

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Verdünnung, Kalibration, Test- und Qualitätskontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
4 Wochen.

Proben zur Qualitätskontrolle: Die im Kit mitgelieferten Herpes I & II IgG-Kontrollen dienen der Qualitätskontrolle zur Beurteilung der Assaydurchführung. Die Positivkontrolle wird zur Validierung des Immulite 2000 Herpes I & II IgG Assay zur Überprüfung kritischer Antikörperspiegel eingesetzt.

Die aktuellen Werte für die Kontrollen entnehmen Sie bitte dem Beipackzettel für die Kontrollen.

Zusätzliche Kontrollen können nach den Richtlinien und Anforderungen, lokaler, staatlicher, behördlicher oder akkreditierender Institutionen getestet werden.

Sollten die Herpes I & II IgG-Kontrollen nicht die erwarteten Werte aufweisen ist eine Rekalibrierung erforderlich, sofern nicht andere Maßnahmen zur Bewertung und Korrektur der nicht-akzeptablen Kontrollwerte zur Identifizierung u. Korrektur des Problems geführt haben. Die Vorgehensweise zur Rekalibrierung bzw. zur Bewertung und Korrektur nicht-akzeptabler Kontrollwerte ist im Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme beschrieben.

Patientenwerte sollten nur dann berichtet werden, wenn die Qualitätskontrollen akzeptable Ergebnisse aufweisen. Liegen die Ergebnisse der Qualitätskontrollen außerhalb der zulässigen Grenzen, so sind die Patientenproben ebenfalls zu wiederholen.

Berechnung von Cutoff und s/co-Index: Um optimale Sensitivität und Spezifität zu gewährleisten, wurde der Mastercutoff mittels repräsentativer Proben ermittelt.

Der Cutoff errechnet sich aus dem Durchschnittsmesswert des Kalibrators pro Sekunde (Mittelwert cps) der zuletzt durchgeführten Kalibrierung multipliziert mit dem Kurvenparameter P1. Siehe "Low Adjustor CPS" und "Curve Parameter 1" in der IMMULITE 2000 Kitinformations-Software, die über das Menü "Data Entry/Kit Entry" erreicht werden kann.

Die Berechnung des s/co-Index-Wertes (s/co) lässt sich durch nachfolgende Formel berechnen:

$$\text{s/co Index} = \frac{\text{Proben od. Kontroll cps}}{\text{Mittelwert Kalibrator cps} \times \text{P1}}$$

Die Berechnungen und die Angabe eines qualitativen Ergebnisses ("reaktiv", "nicht-reaktiv", "grenzwertig")u. der s/co-Index-Werte werden vom IMMULITE 2000 System automatisch durchgeführt.

Das Ergebnis für eine Probe ist „grenzwertig“, wenn die *counts per second (cps)* im Graubereich von ± 10% des Cutoffs liegen. Das Ergebnis ist „reaktiv“, wenn das Signal für die betreffende Probe *über* dem Graubereich liegt und „nicht-reaktiv“, wenn es *darunter* liegt.

Interpretation der Ergebnisse

Ein Ergebnis **“reaktiv”** (s/co Ratio of ≥1,1) weist darauf hin, dass IgG-Antikörper gegen den HSV I & II in der Patientenprobe nachgewiesen wurden. (Der Assay differenziert nicht zwischen HSV I oder HSV II Antikörpern.)

Ein Ergebnis **“nicht-reaktiv”** (s/co Ratio <0,9) weist darauf hin, dass IgG-Antikörper gegen den HSV I & II in der Patientenprobe nicht nachgewiesen wurden.

Lautet das Ergebnis **„grenzwertig“** (s/co-Index zwischen 0,9 und <1,1), so ist der Test zu wiederholen. Proben, die ein zweites Mal ein „grenzwertiges“ Ergebnis bringen, sind entweder mit einer alternativen Methode zu testen, oder, sofern dies möglich ist, innerhalb eines vernünftigen Zeitraums (z.B. eine Woche) mit einer neu entnommenen zweiten Probe erneut zu testen.

Sind IgG-Antikörper gegen HSV I oder II vorhanden, so deutet dies auf eine kürzliche Exposition gegen den Erreger hin. Einzelproben eignen sich ausschließlich zur Bewertung des serologischen Status der betreffenden Person.

Die Größe des Messsignals (cps) oberhalb des Cutoff erlaubt keinen Rückschluss auf die Gesamtantikörpermenge in der Probe.

Referenzwerte

Bei Patienten in der frühen Phase einer Infektion können in Einzelfällen noch keine IgG-Antikörper nachweisbar sein. Die Antikörperkonzentration beginnt etwa 1 bis 2 Wochen nach der Primärinfektion anzusteigen und erreicht ihr Maximum nach ca 6 bis 8 Wochen. Die Konzentration an IgG-Antikörpern nimmt dann im Laufe der Zeit wieder langsam ab. Zwischen den Phasen einer Reaktivierung kann der Antikörperspiegel wieder unter die Nachweisgrenze abfallen. Dies erklärt, warum bei Patienten, die nachweislich eine Infektion mit HSV I oder II durchgemacht haben keine Antikörper nachgewiesen werden können. Eine

Reaktivierung der Viren kann somit nicht immer zu einem erneut messbaren Antikörperanstieg führen.

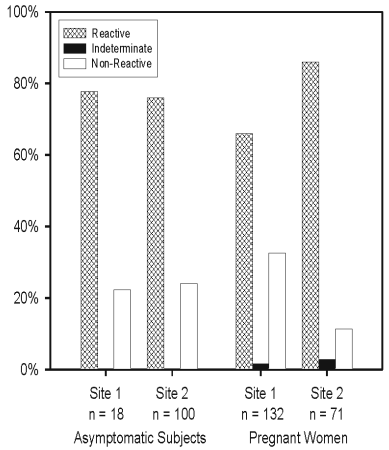
Aufgrund geographischer und bevölkerungsbedingter Unterschiede kann die Prävalenz für das Vorliegen von Antikörpern unterschiedlich sein. Aus diesen Gründen sollte jedes Labor seinen eigenen Referenzbereich ermitteln.

Studien mit gesunden asymptomatischen Personen wurden an zwei Orten der USA mit dem IMMULITE Herpes I &II durchgeführt. Am Studienort I im Nordwesten der USA wurden 18 Personen (10 Frauen u. 8 Männer) im Alter von 26–42 Jahren untersucht. Die Proben wurden bis zu 4 Tagen bei 2–8°C gelagert oder bei längerer Lagerung bei –20°C eingefroren. Am Studienort II im Südwesten der USA wurden 100 Blutspender (54 Frauen u. 46 Männer) im Alter von 17 bis 71 Jahren getestet. Die Proben wurden nach der Abnahme bis zur Testdurchführung bei –20°C eingefroren.

In diesen geographischen verschiedenen Orten der USA lagen die Prävalenz der HSV I &II Reaktivität bei 78% (Studienort I) u. 76% (Studienort II).

In diesen Studien wurden ebenfalls 132 Schwangere (Studienort I) bzw 71 Schwangere im Alter von 16–43 Jahren (Studienort I) bzw. 14–48 Jahren (Studienort II) getestet. Die Prävalenz für die HSV I & II Reaktivität lag bei den Schwangeren bei 66% bzw. 86%.

Diese Ergebnisse entsprechen den Angaben aus der Fachliteratur.[9] Aufgrund von geographischen und populationsbedingten Unterschieden kann es durchaus zu Abweichungen in der Prävalenz kommen. Die Verteilung der Patienten in beiden Populationen ist in der nachfolgenden Abbildung dargstellt.



Grenzen der Methode

Die Testergebnisse sind vor dem Hintergrund der klinischen Anamnese, der Beschwerden des Patienten, sowie weiterer Laborbefunde zu bewerten.

Das Vorliegen von IgG Antikörpern in einer Einzelprobe reicht nicht aus um zwischen einer aktiven und einer durchgemachten Infektion zu unterscheiden.

Eine Primär- oder Akutinfektion sollte mit Hilfe einer Zellkultur aus Patientenmaterial bestätigt werden.[6,7]

Patienten mit dem Verdacht auf eine Primär- oder Akutinfektion sollten auf das Vorliegen von IgM-Antikörpern gegen HSV getestet werden

Zur Bestimmung einer Serokonversion von “nichtreaktiv” zu “reaktiv”, sollten zwei Serumproben im Zeitabstand von 3–4 Wochen während der Akutphase und der Rekonvaleszenzphase gewonnen werden. Die Probe aus der Akutphase sollte aufbewahrt und parallel mit Probe aus der Rekonvaleszenzphase getestet werden.

Personen in der Frühphase einer Infektion können zu Beginn der Erkrankung möglicherweise noch keine nachweisbaren IgG Antikörperspiegel aufweisen.

Aufgrund antigener Kreuzreaktivitäten innerhalb der Familie der Herpesviren kann der HSV I&II IgG-Antikörperspiegel bei Patienten mit Infektionen durch Varizella zoster(VZV), Eppstein-Barr-virus(EBV), Zytomegalievirus(CMV) ansteigen.

Ergebnisse von HIV-Patienten, Patienten unter immunsuppressiver Therapie oder Patienten mit Erkrankungen die zur Immunsuppression führen, sollten mit Vorsicht interpretiert werden.

Die Eckdaten dieses Testsystems wurden nicht für den Gebrauch mit Proben von Neugeborenen, Nabelschnurblut oder Patienten mit bevorstehender Organverpflanzung etabliert.

Auch bei Antikörperspiegeln mit einem Messsignal von 100 000 000 cps wurde kein Prozoneneffekt beobachtet.

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. Herpes I & II Ergebnisse werden als s/co-Ratio-Werte ausgewiesen. Alle Ergebnisse wurden, außer es wird speziell darauf verwiesen, aus Serumproben, die in Röhrchen ohne Antikoagulantien, Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen wurden, ermittelt.

Präzision: Die Proben wurden in 40 Ansätzen in Doppelbestimmung, ingesamt also in 80 Tests, gemessen. (Siehe Tabelle „Präzision“.)

Spezifität: Zur Bestimmung potentieller Kreuzreaktivitäten und möglicher Interferenzen bei der Verwendung des IMMULITE Herpes I & II Assays wurden Studien beim Hersteller durchgeführt. Durch indirekte Immunfluoreszenztests (IFA) oder anti-Komplement Immunfluoreszenztests (ACIF) charakterisierte Seren aus Referenzlaboratorien enthielten IgG-Antikörper gegen Herpesviren einschließlich Zytomegalievirus (CMV), Varizella zoster Virus (VZV), Ebstein-Barr-Virus (EBV), sowie Mycoplasma pneumoniae und Parvovirus B 19. 10 Proben eines jeden Typs wurden mit dem IMMULITE Herpes I & II IgG und einem kommerziell erhältlichen HSV I & II IgG Kit (Kit C) getestet. Aufgrund der hohen Inzidenz der Allgemeinbevölkerung für HSV I und HSV II wurden keine Kreuzreaktivitätsstudien mit HSV I- und HSV II- nicht-reaktiven Seren durchgeführt.

Die Ergebnisse zeigen, dass ca. 70–80% der Proben reaktiv für HSV I & II waren, was die hohe Reaktivitätsrate(bis zu 80%) in der erwachsenen Bevölkerung wiederspiegelt.[10] Die in der nachfolgenden Tabelle aufgeführte Reaktivitätsrate von zusätzlich ca. 20% ist möglicherweise durch Kreuzraktivitäten bedingt (siehe Tabelle “Spezifität”).

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 539 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.

Alternativer Probentyp: Um die Auswirkungen von verschiedenen Probenarten zu untersuchen, wurde Blut von 20 Freiwilligen in Röhrchen ohne Additiva, in Heparin-, EDTA- und Becton

Dickinson SST® Vacutainer-Rörchen gesammelt. Alle Proben wurden mit dem IMMULITE 2000 Herpes IgG Assay mit den nachfolgend aufgeführten Ergebnissen bestimmt.

(Heparin) = 0,96 (Serum) + 0,64
r = 0,990

(SST) = 0,94 (einfachen Röhrchen) + 0,68
r = 0,994

(EDTA) = 0,95 (Serum) + 0,42
r = 0,995

Mittelwerte:
18,7 (Serum)
18,5 (Heparin)
18,3 (SST)
18,1 (EDTA)

Methodenvergleich: Der Assay wurde mit dem IMMULITE Herpes I & II IgG verglichen. Hierzu wurden Proben von 227 Blutspendern gewonnen u. bis zur Testdurchführung tiefgefroren. Vier Proben wurden im Wertebereich des Cutoffs gefunden. (siehe Tabelle “Methodenvergleich”)

Klinische Leistungsdaten

Aufgrund der Korrelation zwischen IMMULITE Herpes I & II IgG und IMMULITE 2000 Herpes I & II IgG (siehe Methodenvergleich) sind vergleichbare klinische Leistungsdaten zu erwarten.

Die klinische Leistungsfähigkeit der IMMULITE Herpes I & II IgG Assays wurde beim Hersteller unter Verwendung eines CMV/HSV-Proficiency Panels überprüft, dass von der CDC (United States Centers for Disease Control and Prevention) zur Verfügung gestellt wurde.

Die Studie wurde beim Hersteller retrospektiv als Blindstudie mit dem CDC-Panel und dem Immulite Herpes I & II durchgeführt und anschließend an die Ergebnisse an CDC zur Auflösung geschickt. Die Ergebnisse werden dargestellt um die Leistungsfähigkeit dieses Assays mit einem maskierten u. gut charakterisierten Probenpanel aufzuzeigen. Dies stellt jedoch keine Billigung des Assays durch die CDC dar.

Das Panel bestand aus 72% reaktiven und 28% nicht-reaktiven Proben. Der IMMULITE Herpes I & II Assay zeigte eine 97%ige Übereinstimmung mit den CDC-Ergebnissen. 97% der reaktiven Proben u. 93% der nicht-reaktiven Proben zeigten eine Übereinstimmung mit den vom Hersteller ermittelten Ergebnissen.

Studien zur Ermittlung der klinischen Leistungsfähigkeit des IMMULITE Herpes I & II Assays wurden unter Verwendung von zwei weiteren kommerziell erhältlichen Testsystemen an zwei unabhängigen Studienorten durchgeführt.

Studie I
In einer prospektiven klinischen Studie in einer medizinischen Einrichtung im Nordwesten der USA wurden insgesamt 200 Serumproben getestet. Von den 200 Serumproben stammten 18 von gesunden asymptomatischen Personen, die sich einer Vorsorgeuntersuchung unterzogen. 132 stammten von Schwangeren und die verbleibenden stammten von Patienten mit verschiedenen Erkrankungen(AIDS, Herzerkrankungen, Immunsupression, Nierentransplantation, Dialyse). Unter den Probanden befanden sich 33 Männer und 167 Frauen im Alter von 0 bis 73 Jahren. Alle Proben wurden bis 4 Tage bei 2–8°C gelagert, bei längerer Lagerung bei –20°C eingefroren.

Alle 200 Proben wurden mit dem IMMULITE Herpes I & II IgG und einem kommerziell erhältlichen Mikrotiter-Elisa (Kit A) evaluiert.

	IMMULITE 2000 Herpes I & II IgG		
Kit A	Reaktiv	grenzwertig	Nicht-reaktiv
Reaktiv	139	1	0
grenzwertig	0	0	1
Nicht-reaktiv	2	1	56

Übereinstimmung: 99,0%

Zwei Proben wurden im IMMULITE Herpes I & II IgG und eine Probe im Kit A als grenzwertig gefunden.

Die beiden diskrepanten Proben wurden mit beiden Methoden wiederholt, wobei sich die Erstergebnisse bestätigten.

Studie 2
In einer zweiten prospektiven Studie in einem virologischen Labor einer Universitätsklinik im Südwesten der USA wurden insgesamt 202 Serumproben getestet. 100 Proben stammten von gesunden asymptomatischen Patienten (Blutspender), 71 Proben stammten von Schwangeren, die sich einem Rötelnvirus-Screening unterzogen und 31 Proben

stammten von Personen deren Serum einer serologischen Untersuchung auf Rubella, CMV u. HIV unterzogen wurden. Das Probenkollektiv bestand aus 57 Männern u. 145 Frauen im Alter von 2 bis 71 Jahren.

Alle 202 Proben wurden bis zur Testung gefroren gelagert u. mit dem IMMULITE Herpes I & II IgG und einem kommerziell erhältlichen HSV I & II IgG Mikrotiter-Elisa (Kit A) getestet.

	IMMULITE Herpes I & II IgG		
Kit A	Reaktiv	grenzwertig	Nicht-reaktiv
Reaktiv	153	0	6
grenzwertig	1	0	0
Nicht-reaktiv	2	3	37

Übereinstimmung: 96,0%

Insgesamt vier Proben wurden als grenzwertig im Immulite oder Kit A gefunden.

Die acht diskrepanten Fälle wurden in beiden Assays wiederholt u. mit einer dritten Methode (KIT B, kommerziell erhältlicher Mikrotiter-Elisa) getestet. Die Wiederholungsmessungen im IMMULITE bestätigten sieben der insgesamt acht Diskrepanten. Wiederholungsmessungen mit Kit A bestätigten vier von acht diskrepanten Ergebnissen. Die dritte Methode (Kit B) zeigte Übereinstimmung mit Immulite in 2 der 8 diskrepanten Fälle, mit Kit A in 6 der 8 Diskrepanten. Die vier grenzwertigen Fälle wurden ebenfalls wiederholt. Durch die Wiederholungsmessungen wurden die grenzwertigen Ergebnisse aufgelöst und IMMULITE Herpes I & II IgG zeigte eine Übereinstimmung mit Kit A in drei von vier Fällen.

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

Herpes I y II IgG

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE 2000 — para la medición cualitativa de los anticuerpos IgG frente al herpes simplex virus (HSV) tipo I y tipo II en suero humano, como una ayuda para la determinación del estado serológico frete al HSV I y II.

Números de Catálogo:
L2KHVG6 (600 tests)

Código del Test: **HVG**
Color: **Rosa oscuro**

Resumen y Explicación del Test

El virus Herpes simplex (HSV) está ampliamente distribuido y se conoce desde antiguo que causa infecciones agudas y recurrentes en el ser humano. El virus entra por las membranas mucosas (ocular, genital y bucal) y se replica localmente.[4,6] La infección de los neonatos durante su paso por el canal puede originar daños neurológicos y la muerte. [5] En una pequeña proporción de los individuos infectados, el virus puede entrar en los ganglios sensoriales, dando lugar a una infección latente recurrente.[1]

En los años 60, se descubrió que el HSV consiste en dos tipos diferentes de virus, HSV-I y HSV-II. HSV-I es considerado el responsable de las infecciones oculares y orales, mientras que el HSV-II es considerado el responsable de las infecciones genitales.[6] No obstante, los tipos I y II de HSV comparten muchos antígenos, y se requiere el uso de anticuerpos monoclonales específicos o mapaje por endonucleasas de restricción para tipar las cepas individuales.[2,7]

Las infecciones con HSV tipo I ó tipo II pueden tener diferentes severidades y síntomas clínicos. La respuesta inmune del huésped juega un papel importante en el control de la severidad de la infección primaria ó infecciones reactivadas. Los de mayor riesgo slos neonatos, que se contagian por su paso por el canal en el parto, y los pacientes inmunocomprometidos.[3]

A pesar de que el aislamiento del virus en cultivo de tejidos se recomienda como método diagnóstico de infecciones activas, los test serológicos pueden dar una información útil para el manejo de poblaciones de riesgo, como mujeres embarazadas.

Principio del análisis

IMMULITE 2000 Herpes I & II IgG es un Inmunoensayo enzimoquimioluminiscente de dos pasos en fase sólida.

Ciclos de incubación: 2 × 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 centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El Herpes I & II IgG 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: 10 µl de suero

Conservación: 3 días a 2–8°C ó 6 meses a –20°C.[11]

Factor de Predilución automático: 20

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

¡PRECAUCIÓN! RIESGO BIOLÓGICO POTENCIAL
Contiene material de origen humano. Cada donación de sangre humana o componente sanguíneo ha sido probada por métodos aprobados por la FDA con el fin de detectar la presencia de anticuerpos de los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2), así como el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y el anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (VHC). Los resultados de estas pruebas fueron negativos (no repetidamente reactivos). Ninguna prueba ofrece total garantía de que en las muestras no haya estos agentes infecciosos u otros; por tanto, este material se deberá manipular conforme a las prácticas recomendables de laboratorio y las precauciones universales[12-14].

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.

Reactivos: Mantener a 2–8°C. Desechar de acuerdo con las normas aplicables.

La bola está recubierta con antígeno *inactivado* de HSV I y II. Sin embargo, se recomienda precaución ante la posible presencia de virus residual cuando trabajamos o deshechamos los materiales suministrados.

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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las cañerías de cobre y plomo.

Los resultados de IgG anti-HSV determinados para una muestra dada mediante ensayos de distintos fabricantes

pueden variar debido a diferencias en los métodos de ensayo y a la especificidad del reactivo. Los resultados enviados por el laboratorio al médico deberían incluir lo siguiente: "Se han obtenido los resultados siguientes con EIA para IgG contra Herpes I y II IgG IMMULITE 2000. Los resultados obtenidos por los métodos de ensayo de otros fabricantes no se pueden usar de forma intercambiable".

Substrato quimioluminiscente: Evitar la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto).

Agua: Usar agua destilada o desionizada.

Materiales Suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

Cartucho de bolas de Herpes I y II IgG (L2HVG12)
Con código de barras. 200 bolas, recubiertas con antígeno HSV tipo I (cepa MacIntyre) y antígeno HSV tipo II (cepa G) (ambos antígenos están parcialmente purificados a partir de lisados celulares). Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KHVG6: 3 cartuchos.

Vial de reactivo de Herpes I y II IgG (L2HVGA2)
Con código de barras. 11,5 ml de solución tampón. 11,5 ml de fosfatasa alcalina (intestino de ternera) conjugada con anticuerpos frente a IgG humana en solución tampón. Estable a 2–8°C hasta su fecha de caducidad.
L2KHVG6: 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.

Herpes I y II IgG Ajustador (LHVGR)
4 ml de suero humano con IgG reactiva frente a HSV I y II, en solución tamponada, con conservante. El ajustador sirve como Cutoff del ensayo. Estable a 2–8°C durante 14 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KHVG6: 2 viales.

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.

Herpes I y II IgG Controles (LHVGC1, LHVGC2)
LHVGC1 (Control Negativo): 2,0 ml de control negativo que contiene suero humano con IgG no reactiva frente a HSV I y II, con conservante. **LHVGC2 (Control Positivo):** 2,0 ml de control positivo que contiene suero humano con IgG reactiva frente a HSV I y II, con conservante. Estable a 2–8°C durante 14 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KHVG6: 2 juegos.

El software del IMMULITE 2000 realiza una dilución automática en el instrumento de las muestras de los controles, y los resultados serán mostrados en la base de datos del control de calidad. Introduzca los controles como controles en la Lista de trabajo.

Para los intervalos control actuales, por favor consulte el prospecto del Control.

Diluyente de IgG/IgM (L2IGZ2)
Para la dilución de las muestras del paciente y controles que van a analizarse. 55 ml matriz proteica no humana en solución tampón concentrado (listo para usarse), con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KHVG6: 1 vial.

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 ×100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2KHVG6: 5 etiquetas.

Componentes del kit que se suministran por separado

Diluyente de IgG/IgM (L2IGZ2)
Para la dilución de las muestras del paciente y controles que van a analizarse. 55 ml matriz proteica no humana en solución tampón concentrado (listo para

usarse), con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2IGZ2: 1 vial.

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 ×100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2IGZ2: 5 etiquetas.

L2SUBM: Substrato quimioluminiscente
L2PWSM: Lavado de sonda
L2KPM: Kit de limpieza de sonda
LRXT: Tubos de reacción (desechables)
L2ZT: 250 tubos de diluyente de muestras (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tapones de tubos de diluyentes de muestras

También necesario:
Pipetas de transferencia de muestras; agua destilada o desionizada.

Ensayo

Aviso: para obtener un funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para: la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:
4 semanas.

Muestras de Control de calidad: Los controles Herpes I y II suministrados con el kit pueden ser usados como material de control de calidad para monitorizar las características del ensayo en el rango del cutoff. El control positivo es usado para validar el ensayo en el nivel crítico cuando se determina el estado serológico de un paciente.

Para los intervalos control actuales, por favor consulte el prospecto del Control.

Pueden analizarse otros controles según las directrices o requisitos de las normas locales, estatales, federales o de las organizaciones acreditadas.

Si los controles de Herpes I y II IgG no dieran los valores esperados, se debe reajustar con la finalidad de identificar y corregir el problema. El procedimiento para reajustar se describe en detalle en el manual del operador de los sistemas IMMULITE 2000.

Los resultados de los pacientes no deben informarse a menos que el control de calidad sea aceptable. Si el control de calidad es inaceptable, las muestras de pacientes deberán ser repetidas otra vez.

Calculo de Cutoff y Ratio S/CO: El punto de corte (Cutoff) Master del ensayo fue determinado con muestras representativas que mostraron una óptima sensibilidad y especificidad para el ensayo.

El cutoff es obtenido de la media de las cuentas por segundo (media de cps) del ajustador (del ajuste mas reciente) multiplicada por el parametro 1 de la curva master. (Ver "Low Adjustor CPS" and "Curve Parameter 1" dentro de la pantalla de Información del Kit a la cual se entra a traves del menú del IMMULITE 2000 via kits.)

El cálculo del ratio señal/cutoff (s/co) se realiza utilizando la formula siguiente:

$$\text{S/CO Ratio} = \frac{\text{cps Muestra o Control}}{\text{Media cps Ajustador} \times \text{P1}}$$

El cálculo nos dará un resultado cualitativo (reactivo / no reactivo / indeterminado) y se mostrarán automaticamente por el IMMULITE 2000.

El resultado para una muestra es informado como “Indeterminado” si las cuentas por segundo para la muestra entran dentro del ±10% del cutoff. El resultado es informado como “reactivo” si las cuentas de la muestra están sobre este rango indeterminado, y “no reactivo” si están por debajo del rango.

Interpretación de los resultados:

- Un resultado **"Reactivo"** (ratio de ≥1,1) indica que los anticuerpos IgG contra HSV I & II han sido detectados en la muestra del paciente. (El ensayo no diferencia entre anticuerpos frente HSV I o HSV II.)

- Un resultado **"No reactivo"** (ratio de <0,9) indica que los anticuerpos IgG contra HSV I & II no se han detectado en la muestra del paciente.
- Debe repetirse la prueba para cualquier resultado "**Indeterminado**" (ratio entre 0,9 y 1,1). Las muestras cuyos resultados siguen siendo "Indeterminados" deben continuar analizándose por un método diferente, o bien debe tomarse una segunda muestra, si es posible, dentro de un periodo de tiempo razonable (por ejemplo, una semana).

La presencia de anticuerpos IgG para HSV indica una exposición previa al virus. Una sola muestra sólo puede utilizarse para determinar el estado serológico del individuo.

La magnitud de los resultados medidos (cps) por encima del valor de corte no es indicativa de la cantidad total de anticuerpos detectados.

Valores Esperados

Los individuos infectados con HSV I o II pueden no tener cantidades detectables de anticuerpos IgG en los estadíos iniciales de la infección. Los niveles de anticuerpos IgG frente a HSV comienzan a elevarse pasadas una o dos semanas despúes de la infección. El pico de nivel de IgG se alcanza transcurridas de 6 a 8 semanas, empezando a caer el título según se avanza en el tiempo. Los niveles de anticuerpos pueden hacerse indetectables entre los periodos de reactivación; por lo que puede obtenerse resultados “no reactivo” antes de la reexposición del virus.[1,3,6] La reactivación del virus puede o puede no conllevar niveles detectables de anticuerpos en el ensayo IMMULITE 2000 Herpes I y II IgG.

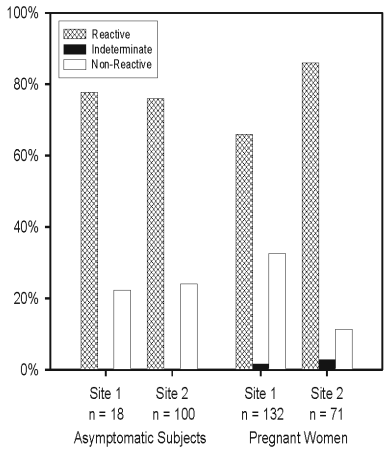
La prevalencia puede variar debido a las diferencias geográficas o de población. Por lo que cada laboratorio debe establecer sus propios rangos de normalidad.

Se han llevado acabo estudios con sujetos asintomáticos y presumiblemente en buen estado de salud con el ensayo IMMULITE 2000 Herpes I y II IgG en dos localidades de USA. En una localidad (Sitio 1) del noroeste de USA, se usaron 18 individuos sujetos a una analítica pre-laboral (10 mujeres y 8 hombres) con edades comprendidas entre 26 y 42 años (las muestras fueron almacenadas a 2–8°C si el ensayo no se realizaba en los cuatro días siguientes a la extracción, si no, eran congeladas a –20°C). En la segunda localidad al suroeste de USA, los individuos eran 100 donantes de sangre (54 mujeres y 46 hombres) con edades comprendidas entre 17 y 71 años (las muestras fueron congeladas en el acto).

La prevalencia de reactividad frente a HSV I y II fue del 78% (Sitio 1) y del 76% (Sitio 2) en estas dos localidades tan distintas geográficamente en los Estados Unidos de Norteamérica.

Estos estudios también incluían 132 (Sitio 1) y 71 (Sitio 2) mujeres embarazadas, con edades comprendidas entre 16 y 43 años (Sitio1) y entre 14 y 48 años (Sitio 2). La prevalencia de reactividad frente a HSV I y II en esta población específica fue del 66% y del 86% respectivamente en estas dos localidades.

Estas prevalencias son similares a las que aparecen en la bibliografía actual.[9] No obstante, la prevalencia puede variar debido a las diferencias geográficas o de población. La distribución de los pacientes en las dos poblaciones usadas en estos dos sitios independientes, es la mostrada a continuación:



Limitaciones

El resultado de un test debe analizarse en el contexto de la historia clínica del paciente, su sintomatología y otras determinaciones diagnósticas.

La presencia de anticuerpos IgG en una sóla muestra no es suficiente para distinguir entre infección activa o antigua.

La infección primaria o aguda de HSV debe confirmarse con el cultivo de HSV a partir de una muestra del paciente.[6,7]

Los pacientes que se sospechen que tengan infección primaria o aguda deben ser analizados para ver la presencia de anticuerpos IgM frente al HSV.

Para determinar la seroconversión de *no reactivo* a *reactivo,* deben recogerse dos muestras de suero en un periodo de 3 – 4 semanas, durante la fase aguda y de convalecencia de la infección. La muestra de la fase aguda debe almacenarse y analizarse paralelamente a la muestra de la fase de convalecencia.

Los individuos con una infección aguda de HSV pueden tener cantidades indetectables de anticuerpos IgG en los primeros estadíos de la infección.

Se puede observar una elevación de los niveles de anticuerpos IgG frente a HSV I y II en infecciones con varicella-zoster virus (VZV), Epstein-Barr Virus (EBV) o citomegalovirus (CMV) debido a las reacciones cruzadas dentro de la familia de los herpesvirus.

Los resultados de pacientes infectados con el virus VIH, pacientes sometidos a una terapia inmunosupresiva, o en pacientes con otros desórdenes que originen inmunosupresión, deben interpretarse con cautela.

No se han establecido las características de rendimiento de este ensayo para su uso con muestras de recién nacidos, sangre del cordón umbilical o pacientes pretrasplantados.

No se ha demostrado la presencia de efecto prozona a niveles de anticuerpos que generan 100 000 000 cps.

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 expresaron como una relación señal(cps)/valor de corte. 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.

Precisión: Las muestras fueron analizadas por duplicado en 40 tandas para un total de 80 replicados. (Ver la tabla "Precisión".*)*

Especificidad: Los estudios fueron llevados a cabo internamente para determinar las reacciones cruzadas o interferencias que puedan darse al utilizar el ensayo IMMULITE Herpes I y II IgG. Las muestras séricas fueron obtenidas de laboratorios de referencia y caracterizadas por un ensayo de fluorescencia directa (IFA) o mediante inmunofluorescencia anti-complemento (ACIF) como poseedoras de anticuerpos IgG frente a herpesvirus, incluyendo citomegalovirus (CMV), varicella-zoster virus (VZV), Epstein-Barr virus (EBV), así como *Mycoplasma pneumoniae* y parvovirus B19. Diez muestras de cada tipo fueron analizadas con el kit IMMULITE Herpes I y II IgG y con kits disponibles comercialmente la determinación de IgG para HSV I y HSV II (Kit C). Debido a la alta incidencia de HSV I y HSV II en la población general, los estudios de reacciones cruzadas *sólo* se llevaron a cabo con muestras no reactivo frente a HSV I y HSV II.

Los resultados indican que aproximadamente entre el 70% y 80% de las muestras fueron reactivas frente a HSV I y II, reflejando la alta tasa de reactividad (hasta el 80%) en la población adulta.[10] Es posible que la tasa adicional del 20% mostrada en la tabla se deba a reacciones cruzadas. (Ver la tabla "Especificidad".)

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 539 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.

Tipo de Muestra Alternativa: para evaluar el efecto de los diferentes tipos de muestras alternativos, se recogió sangre de 20 voluntarios en tubos normales, tubos con Heparina, tubos con EDTA y tubos vacutainer SST® de Becton Dickinson. Todas las muestras fueron analizadas con el procedimiento Herpes IgG IMMULITE 2000, con los siguientes resultados.

(Heparina) = 0,96 (Suero) + 0,64
r = 0,990

(SST) = 0,94 (tubos simples) + 0,68
r = 0,994

(EDTA) = 0,95 (Suero) + 0,42
r = 0,995

Medias:
18,7 (Suero)
18,5 (Heparina)
18,3 (SST)
18,1 (EDTA)

Comparación de métodos: El ensayo fur comparado con el kit IMMULITE Herpes I y II IgG usando muestras de 227 donantes de sangre. Todas las muestras fueron recogidas en fresco y congeladas para su posterior análisis. Cuatro muestras estaban cercanas al valor del cutoff. (Ver la tabla “Method Comparison”)

Rendimiento clínico

Basado en la correlación entre los ensayos IMMULITE Herpes I y II IgG e IMMULITE 2000 Herpes I y II IgG (ver Method Comparison), el cliente puede esperar un rendimiento clínico comparable de ambos métodos.

El rendimiento clínico del ensayo IMMULITE Herpes I y II IgG fue estudiado internamente usando un control de calidad para CMV/HSV obtenido del United States Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

El estudio retrospectivo interno se realizó examinando el panel de suero CDC con el ensayo IMMULITE Herpes I & II IgG y enviando los resultados al CDC para su revelado. Los resultados se presentan como un medio para aportar más información acerca del rendimiento de este ensayo con un panel de sueros caracterizado y enmascarado. Esto no implica la aprobación del ensayo por parte del CDC.

El panel consistía en un 72% de muestras positivas y un 28% de muestras no reactivas. El ensayo IMMULITE Herpes I y II IgG demostró un 97% de concordancia total con los resultados del CDC. De los resultados obtenidos internamente, había un 99% de concordancia con las muestras reactivas y un 93% de concordancia con las muestras no reactivas.

También, se han llevado a cabo estudios de rendimiento clínico del ensayo IMMULITE Herpes I y II IgG y otros dos sistemas disponibles comercialmente (Kit A y Kit B) en dos sitios independientes.

Sitio 1
En un estudio llevado a cabo en un centro médico localizado en el noroeste de los Estados Unidos, se analizaron un total de 200 muestras. De las 200 muestras, 18 fueron obtenidas a partir de sujetos asintomáticos y presumiblemente en buen estado de salud sujetos a una analítica pre-laboral, 132 eran mujeres embarazadas y los restantes, eran pacientes con diferentes enfermedades (SIDA, enfermedad cardiaca, inmunocomprometidos, transplante renal, diálisis). Había 33 hombres y 167 mujeres con edades comprendidas entre recién nacidos y 73 años. Todas las 200 muestras fueron almacendas a 2–8°C si el

ensayo se realizaba en los cuatro días siguientes a la toma, si no, se congelaban a –20°C.

Todas las 200 muestras fueron evaluadas con el ensayo IMMULITE Herpes I y II IgG y el Kit A, un ensayo ELISA en microplaca disponible comercialmente para HSV I y II IgG.

	IMMULITE Herpes I y II IgG		
Kit A	Reactivo	Indeterminado	No reactivo
Reactivo	139	1	0
Indeterminado	0	0	1
No reactivo	2	1	56

Concordancia: 99,0%

Dos muestras fueron informadas como indeterminadas por el IMMULITE 2000 Herpes I y II IgG, y una por el Kit A.

Los dos casos discrepantes fueron repetidos con ambos métodos, IMMULITE Herpes I y II IgG y el Kit A, y los resultados se mantuvieron como los iniciales.

Sitio 2
En el segundo estudio clínico llevado a cabo por un laboratorio de Virología Clínica universitario en el suroeste de los Estados Unidos, se analizaron un total de 202 muestras séricas. De las 202 muestras, 100 eran de sujetos asintomáticos y presumiblemente en buen estado de salud (donantes de sangre), 71 eran de mujeres embarazadas sometidas a un screening de rubeola y 31 eran de pacientes sometidos a análisis de diferentes enfermedades infecciosas rubeola, CMV, toxoplasma, SIDA). Había 57 hombres y 145 mujeres con edades comprendidas entre los 2 días y los 71 años.

Todas las 202 muestras (previamente recogidas y congeladas por los investigadores) se evaluaron usando el kit IMMULITE Herpes I y II IgG y el Kit A, un ELISA en microplaca para HSV I y II IgG disponible comercialmente.

	IMMULITE Herpes I y II IgG		
Kit A	Reactivo	Indeterminado	No reactivo
Reactivo	153	0	6
Indeterminado	1	0	0
No reactivo	2	3	37

Concordancia: 96,0%

Cuatro muestras fueron informadas como indeterminadas tanto por el IMMULITE como por el Kit A.

Los ocho casos discrepantes fueron investigados mediante la repetición con ambos métodos, IMMULITE Herpes I y II IgG y Kit A, y con un tercer método, Kit B (un kit ELISA microplaca disponible comercialmente). El IMMULITE confirmó los resultados iniciales del IMMULITE 2000 en 7 de los 8 casos discrepantes. El Kit A confirmó los resultados iniciales del kit A en 4 de los 8 casos. El tercer método, kit B, concordaba en 2 de 8 de los casos con el IMMULITE y en 6 de 8 casos con el kit A. Los cuatro casos indeterminados fueron otra vez repetidos con el método inicial y el IMMULITE Herpes I y II IgG estaba en concordancia en 3 de 4 casos con el kit A.

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

IMMULITE 2000 Herpès I & II IgG

Domaine d'utilisation : Dosage qualitatif des anticorps IgG dirigés contre les types I et II du virus de l'herpès simplex dans le sérum humain. Réservé à un usage diagnostic *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000, ce test constitue une aide pour la détermination du statut sérologique vis-à-vis des VHS I & II.

Référence catalogue :
L2KHVG6 (600 tests)

Code produit : **HVG**.
Code couleur : **Rose foncé**.

Introduction

Le virus de l'Herpès simplex est un virus ubiquitaire ancient, connu pour être la cause d'infections aiguës et récurrentes chez l'homme. Le virus pénètre les muqueuses (oculaire, génitale ou orale) et se réplique localement. [4,6] L'infection périnatale du nouveau-né peut provoquer des dommages neurologiques et la mort.[5] Chez une petite partie des individus infectés, le virus peut pénétrer les ganglions sensitifs, d'où des infections latentes récurrentes.[1]

Deux types distincts de VHS ont été reconnus dans les années 1960, le VHS-I et le VHS -II. Le VHS -I est considéré être principalement associé à l'infection oculaire et orale, tandis que le VHS-II est considéré comme associé à une infection génitale.[6] Néanmoins, les VHS de types I et II partagent plusieurs antigènes communs et l'utilisation d'anticorps monoclonaux spécifiques ou de profils de restriction de l'endonucléase peuvent être nécessaires pour typer les souches individuelles.[2,7]

Les infections à VHS de type I ou de type II peuvent différer dans leurs manifestations cliniques et leur sévérité. La réponse immunitaire de l'hôte peut jouer un rôle important quant au contrôle de la sévérité des infections primaires ou réactivées. Le plus grand risque est chez les nouveau-nés ayant contracté une infection périnatale et les patients immunodéficients.[3]

Alors que l'isolement du virus sur culture tissulaire est recommandée pour le diagnostic d'infections actives, les tests sérologiques peuvent fournir des informations valables pour le suivi des populations à risque comme les femmes enceintes.

Principe du test

Le test IMMULITE 2000 Herpès I & II IgG est un immunodosage chimiluminescent en phase solide en deux étapes.

Cycles d'incubation : 2 × 30 minutes.

Recueil des échantillons

Il est recommandé de clarifier les échantillons hyperlipémiques par ultracentrifugation.

Des échantillons hémolysés peuvent être signe d'une souffrance du prélèvement avant son arrivée 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 dûs 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 IMMULITE 2000 Herpès I & II IgG 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 : 10 µl de sérum.

Conditions de conservation :
3 jours à +2°C/+8°C ou 6 mois à –20°C.[11]

Facteur de prédilution automatique : 20.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.



AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL
Contient du matériel d'origine humaine. Chaque don de sang ou de composant sanguin humain a été testé selon des méthodes homologuées par la FDA afin de détecter la présence d'anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2), ainsi que la présence d'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) et d'anticorps anti-virus de l'hépatite C (VHC). Les résultats de ces tests se sont révélés négatifs (ou positifs mais de façon non répétable). Aucun test ne peut garantir totalement

l'absence d'agents infectieux tels que ceux-ci ou d'autres. Par conséquent, ce matériel doit être manipulé conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux précautions universelles.[12-14]

AVERTISSEMENT : Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.

Réactifs : conserver les réactifs à +2/ +8 °C. Eliminer les déchets conformément à la réglementation en vigueur.

La bille est revêtue d'antigène viral VHS I & II *intactivé*. Néanmoins, il convient de toujours manipuler les matériaux fournis avec précaution à cause de la possible présence résiduelle du virus.

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.

Pour un échantillon donné, les résultats d'IgG anti-VHS I & II dosés par les tests de différents fabricants peuvent varier en raison des différences des méthodes utilisées et de la spécificité des réactifs. Les résultats adressés par le laboratoire au médecin devront comporter la mention suivante : « Les résultats suivants ont été obtenus avec le dosage IMMULITE 2000 Herpès I & II IgG. Les résultats obtenus avec d'autres procédés de dosage du marché ne doivent pas y être substitués. »

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 Herpès I & II IgG (L2HVG12)
Avec code-barre. 200 billes revêtues d'antigène VHS de type I (souche MacIntyre) et d'antigène VHS de type II (souche G) (les deux antigènes sont partiellement purifiés à partir de lysats de cellules infectées). Stable à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KHVG6 : 3 cartouches.

Cartouche à réactif Herpès I & II IgG (L2HVGA2)
Avec code-barre. 11,5 ml de solution tampon. 11,5 ml d'anticorps IgG anti-humain marqué à la phosphatase alcaline (intestins de veau) dans un tampon. Stable à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KHVG6 : 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.

Ajusteur Herpès I & II IgG (LHVGR)
4 ml de sérum humain avec des IgG anti-VHS I & II dans un tampon avec conservateur. L'Ajusteur sert de valeur seuil pour le dosage. Stable à +2°C/+8°C pendant 14 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KHVG6 : 2 flacons.

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

Contrôles Herpès I & II IgG (LHVGC1, LHVGC2)
LHVGC1 (Contrôle négatif) : 2,0 ml de contrôle négatif contenant du sérum humain sans IgG dirigées contre VHS I et II, avec conservateur. **LHVGC2 (Contrôle positif) :** 2,0 ml de contrôle positif contenant des IgG dirigées contre VHS I

et II, avec conservateur. Stable à +2°C/+8°C pendant 14 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KHVG6 : 2 jeux.

Le logiciel de l' IMMULITE 2000 réalise automatiquement les dilutions à bord des échantillons de contrôles, les résultats sont alors importés dans la base de données QC. Entrer les contrôles (comme des contrôles).

Pour connaître la valeur de ratio du contrôle actuel, se reporter à la fiche technique du contrôle.

Diluant Echantillon IgG/IgM (L2IGZ2)
Pour la dilution par l'appareil des échantillons cliniques et des contrôles. 55 ml concentré prêt à l'emploi, matrice tampon/protéines non-humaines avec conservateur. Stable à +2°/ +8 °C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20 °C.
L2KHVG6: 1 flacon.

Les étiquettes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16×100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2KHVG6: 5 étiquettes

Composants du coffret fournis séparément

Diluant Echantillon IgG/IgM (L2IGZ2)
Pour la dilution par l'appareil des échantillons cliniques et des contrôles. 55 ml concentré prêt à l'emploi, matrice tampon/protéines non-humaines avec conservateur. Stable à +2°/ +8 °C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20 °C.
L2IGZ2: 1 flacon.

Les étiquettes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16×100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2IGZ2: 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 × 100 mm)
L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

Egalement nécessaire :
Pipettes pour le transfert des échantillons ; eau distillée ou désionisée.

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000.

Voir le Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000 pour : la préparation, le démarrage du système, la dilution, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé : 4 semaines.

Echantillons pour le contrôle de qualité : Les contrôle Herpès I & II IgG fournis dans le coffret doivent être utilisés comme contrôle de qualité, pour assurer le suivi des performances du dosage au niveau du seuil. Le Contrôle Positif est utilisé pour valider le coffret IMMULITE 2000 I & II IgG à un taux critique lors de la détermination du statut sérologique d'un patient.

Pour connaître l'intervalle acceptable pour les contrôles en cours, se référer à la fiche technique des contrôles.

Des contrôles supplémentaires peuvent être testés en accord avec la réglementation locale.

Si les contrôles Herpès I & II IgG ne donnent pas les résultats attendus, un réajustement est alors conseillé si les autres méthodes d'évaluation et de correction des résultats de contrôle inacceptable ont échoué pour identifier et corriger le problème. La procédure de réajustement et d'évaluation et de correction de résultats de contrôle inacceptables est décrite en détail dans le Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000.

Les résultats de patients ne doivent pas être rendus si les résultats du contrôle de qualité ne sont pas acceptables. Dans ce cas, les échantillons de patients dosés lors de cette série doivent être retestés.

Résultats : Le seuil du dosage est déterminé avec des échantillons représentatifs afin d'obtenir la sensibilité et la spécificité optimales pour le dosage.

Le seuil est défini comme le nombre moyen de coups par seconde (cps) de l'ajusteur (provenant de l'ajustement le plus récent) multiplié par le Paramètre n° 1. (Voir les champs « Ajusteur bas » et « Paramètre 1 » de l'écran « Coffret ».)

Le calcul du rapport Signal/Seuil utilise l'équation suivante :

$$\text{Rapport} = \frac{\text{CPS échantillon ou contrôle}}{\text{CPS moyen ajusteur x P1}}$$

Les résultats (réactif, non réactif, indéterminé) sont automatiquement calculés par l'IMMULITE 2000.

Le résultat d'un échantillon est “indéterminé” si le nombre de coups par seconde pour cet échantillon se situe à ±10 % du seuil. Le résultat est “réactif” si le nombre de coups par seconde pour cet échantillon est *supérieur* à l'intervalle “indéterminé” et “non réactif” s'il est *inférieur* à cet intervalle.

Interprétation des résultats

- Un résultat **" Réactif "** (ratio ≥1,1) indique que d'anticorps IgG anti-VHS I ou II ont été détectés dans le sérum du patient. (Le dosage ne différencie pas les anticorps VHS I des VHS II.)
- Un résultat **" Non réactif "** (ratio <0,9) indique qu'aucun d'anticorps IgG anti-VHS I ou II n'a été détecté dans le sérum du patient.
- Tout échantillon « **indéterminé** » (rapport seuil/signal entre 0,9 et 1,1) devra faire l'objet d'un nouveau test. Les échantillons qui demeureraient « indéterminés » devront être testés par une autre méthode ou un autre prélèvement devra être effectué – si possible – dans un délai raisonnable (une semaine, par exemple).

La présence d'anticorps IgG anti-VHS I ou II est le signe d'une infection antérieure par le virus. Un échantillon unique ne peut être utilisé que pour estimer le statut sérologique d'un individu.

L'amplitude des résultats mesurés (cps) au-dessus du seuil n'est pas représentative du taux d'anticorps détectés.

Valeurs de référence

Les individus infectés par VHS I ou II peuvent présenter des taux indétectables d'anticorps IgG au stade précoce de l'infection. Les taux d'anticorps IgG anti-VHS commencent à augmenter une ou deux semaines après la primo-infection. Les taux atteignent leur pic en six à 8 semaines, puis décroissent graduellement avec le temps. Les taux d'anticorps peuvent diminuer jusqu'à des taux indétectables entre les périodes de réactivation; c'est pourquoi, un patient peut présenter un résultat "non réactif" malgré une infection antérieure par le virus.[1,3,6] La réactivation du virus peut donner (ou pas) un taux détectable d'anticorps lors du dosage IMMULITE 2000 Herpès I & II IgG.

La prévalence varie en fonction du lieu géographique ou des différences de population. C'est pourquoi, chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

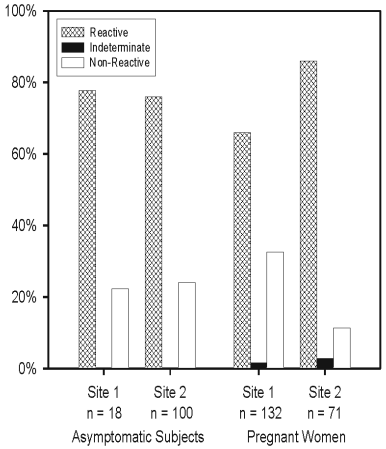
Des études sur des sujets asymptomatiques, présumés en bonne santé ont été réalisées avec le coffret IMMULITE Herpès I & II IgG dans deux sites des Etats-Unis. Sur un site (Site 1) au nord-ouest des Etats-Unis, la population comportait 18 personnes ayant une consultation de dépistage avant embauche (10 femmes et 8 hommes), âgés de 26 à 42 ans (les échantillons ont été conservés à +2°C/+8°C si le dosage était réalisé dans les quatre jours, sinon congelés à –20°C). Dans le second site dans le sud-ouest des Etats-Unis, la population comportait 100 donneurs de sang (54 femmes et 46 hommes) âgés de 17 à 71 ans (les échantillons ont été prélevés et congelés).

La prévalence de positivité pour VHS I & II a été trouvée à 78% (Site 1) et 76% (Site 2) dans ces deux lieux géographiquement distincts des Etats-Unis.

Ces sites d'étude ont également inclut 132 (Site 1) et 71 (Site 2) femmes enceintes, âgées de 16 à 43 ans (Site1) et de 14 à 48 ans (Site 2). La prévalence de positivité pour VHS I & II dans cette population

spécifique dans ces deux sites était respectivement à 66% et 86%.

Ces prévalences sont similaires à celles indiquées dans la littérature.[9] Cependant, la prévalence peut varier en fonction du lieu géographique ou des différences de population. La distribution des patients dans les deux populations de ces deux sites indépendants est représentée sur le graphique suivant.



Limites

Les résultats du test doivent impérativement être interprétés selon le contexte clinique du patient, la symptomatologie et d'autres données de laboratoire.

La présence d'anticorps IgG dans un échantillon unique n'est pas suffisante pour distinguer une infection active d'une infection antérieure.

Les primo-infections ou les infections aiguës doivent être confirmées par la culture du VHS provenant du patient.[6,7]

Les patients suspectés d'avoir une primo-infection ou une infection active doivent être testés pour détecter la présence d'anticorps IgM anti-VHS.

Pour la détermination d'une séroconversion, deux échantillons sériques doivent être prélevés à trois à quatre semaines d'intervalle, pendant les pahes d'infection aiguë et de convalescence. L'échantillon de phase aiguë doit être conservé et testé en parallèle avec l'échantillon de convalescence.

Les individus souffrant d'une infection aiguë par VHS peuvent présenter des taux indétectables d'anticorps IgG au stade précoce de l'infection.

Une augmentation du taux d'anticorps IgG anti- VHS I & II peut se présenter chez des patients atteints d'infection par le virus de la varicelle et du zona (VZV), le virus Epstein-Barr (EBV) ou le cytomegalovirus (CMV) à cause de la réaction croisée antigènique dans la famille des herpesviridae.

Les résultats des patients HIV, sous thérapie d'immunosuppression ou autres atteints de troubles provocant une immunodéficience, doivent être interprétés avec précaution.

Les preformances de ce dosage n'ont pas été établis pour des échantillons de nouveau-nés, de sang de cordon ou de patients en attente de greffe.

Aucun effet de prozone n'a été mis en évidence pour des taux d'anticorps approchant les 100 000 000 cps.

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 1998:34:27-33.] 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 de ce test. Les résultats sont exprimés en rapport Signal/Seuil. (En l'absence d'indication contraire, tous les résultats ont été obtenus sur des

échantillons sériques recueillis sur tubes, sans anticoagulant, ni gel, ni activateur de la coagulation).

Précision : Les échantillons ont été dosés en double essai lors de 40 séries soit un total de 80 résultats. (Voir le tableau « Precision ».)

Spécificité : Des études ont été réalisées en interne pour déterminer les réactions croisées ou les interférences qui pourraient avoir lieu lors du dosage IMMULITE Herpès I & II IgG. Des échantillons sériques ont été obtenus de différents laboratoires de référence et caractérisés par dosage en immunofluorescence indirecte (IFA) ou Immunofluorescence anti-complément (ACIF), connus comme contenant des anticorps IgG dirigés contre les herpesviridae - comprenant le cytomegalovirus (CMV), le virus de la varicelle et du zona (VZV), le virus Epstein-Barr (EBV) - ainsi que *Mycoplasma pneumoniae* et le parvovirus B19. Dix échantilons de chaque type ont été dosés avec le coffret IMMULITE Herpès I & II IgG et d'autres coffrets de dosage pour les IgG anti- VHS I et VHS II IgG disponibles dans le commerce (coffret C). Vu la forte incidence du VHS I du VHS II dans la population totale, les études de réactions croisées n'utilisant que des sérums non réactifs pour VHS I et VHS II n'ont pas été réalisées.

Les résultats indiquent qu'environ 70 à 80% des échantillons étaient réactifs pour VHS I & II, reflétant le fort taux de réactif (jusqu'à 80%) de la population adulte.[10] Il est possible que le taux additionnel de réactif de 20 % indiqué dans le tableau soit dû aux réactions croisées. (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 539 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.

Autres types d'échantillons : pour estimer l'effet de l'utilisation de différents type d'échantillons, 20 volontaires ont été prélevés sur tubes secs, héparinés, EDTA et sur tubes vacutainer SST® Becton Dickinson. Tous les échantillons ont été dosés avec le protocole IMMULITE 2000 Herpes IgG et ont donné les résultats suivants.

(Hépariné) = 0,96 (Sérum) + 0,64
r = 0,990

(SST) = 0,94 (tubes ordinaires) + 0,68
r = 0,994

(EDTA) = 0,95 (Sérum) + 0,42
r = 0,995

Moyennes :
18,7 (Sérum)
18,5 (Hépariné)
18,3 (SST)
18,1 (EDTA)

Comparaison de méthode : Le dosage a été comparé au test IMMULITE Herpès I & II IgG sur des échantillons provenant de 227 donneurs de sang. Tous les échantillons ont été collectés frais et congelés pour l'analyse. Quatre échantillons étaient proches du seuil. (Voir le tableau “Method Comparison”.)

Performances cliniques

Vu la correlation entre les tests IMMULITE Herpès I & II IgG et IMMULITE 2000 Herpès I & II IgG assays (voir comparaison de méthode), les performances cliniques sont comparables.

Les performances cliniques du dosage IMMULITE Herpes I & II IgG ont été étudiées en interne avec un panel CMV/ VHS panel provenant du United States Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

L'étude rétrospective en interne a été réalisée en testant le panel sérique CDC avec le dosage IMMULITE Herpès I & II IgG et en envoyant les résultats au CDC pour le décryptage. Ces résultats sont présentés pour compléter les informations sur les performances du test avec un panel sérique connu et crypté. Ceci ne signifie pas que le dosage ait été approuvé par le CDC.

Le panel est composé de 72% d'échantillons réactifs et de 28% d'échantillons non réactifs. Le dosage IMMULITE Herpès I & II IgG a présenté une concordance total de 97% avec les

résultats du CDC. Parmi les résultats obtenus en interne, il y avait une concordance de 99% pour les échantillons réactifs et de 93% pour les échantillons non réactifs.

Des études sur les performances cliniques du dosage IMMULITE Herpès I & II IgG et de deux autres systèmes disponibles dans le commerce (Coffret A et Coffret B) ont été réalisée sur deux sites indépendants.

Site 1
Lors d'une étude clinique prospective réalisée dans un centre médical du nord-ouest des Etats-Unis, un total de 200 échantillons sériques ont été testés. Parmi les 200 échantillons, 18 provenaient d'individus asymptomatiques apparemment en bonne santé ayant une consultation de dépistage avant embauche, 132 provenaient de femmes enceintes et le reste de patients atteints de différentes pathologies (SIDA, maladie cardiaque, immunodéficience, transplantation/dialyse rénale). Il y avait 33 hommes et 167 femmes, du nouveau-né à l'âge de 73 ans. Les 200 échantillons ont été conservés à +2°C/+8°C si le dosage était réalisé dans les quatre jours, les autres échantillons étant congelés à -20°C.

Les 200 échantillons ont été testés avec le coffret IMMULITE Herpès I & II IgG et le coffret A, un test ELISA en microplaque pour le dosage des IgG anti-HSV I & II IgG disponible dans le commerce.

	IMMULITE Herpès I & II IgG		
Coffret A	Réactif	Indéterminé	Non réactif
Réactif	139	1	0
Indéterminé	0	0	1
Non réactif	2	1	56

Concordance: 99,0%

Deux échantillons ont donné un résultat indéterminé avec le test IMMULITE Herpès I & II IgG et un avec le coffret A.

Les deux discordances ont été retestées avec le coffret IMMULITE Herpès I & II IgG et le coffret A, les résultats des retests restant indentiques à ceux du test initial.

Site 2
Lors d'une seconde étude clinique prospective réalisée par un laboratoire universitaire de virologie clinique dans le sud-ouest des Etats-Unis, un total de 202 échantillons sériques ont été testés. Parmi les 202 échantillons, 100 provenaient d'individus asymptomatiques apparemment en bonne santé (donneurs de sang), 71 provenaient de femmes enceintes lors d'un dépistage de rubéole et 31 provenaient de patients subissant un dépistage sérologique de diverses maladie infectieuses (rubéole, CMV, toxoplasme, SIDA). Il y avait 57 hommes et 145 femmes, âgés de 2 jours à 71 ans.

Les 202 échantillons (prélevés et congelés par les chercheurs) ont été dosés avec le coffret IMMULITE Herpès I & II IgG et le coffret A, un test ELISA en microplaque pour le dosage des IgG anti-VHS I & II IgG disponible dans le commerce.

	IMMULITE Herpès I & II IgG		
Coffret A	Réactif	Indéterminé	Non réactif
Réactif	153	0	6
Indéterminé	1	0	0
Non réactif	2	3	37

Concordance: 96,0%

Quatre échantillons ont donné un résultat indéterminé soit avec le test IMMULITE soit avec le coffret = A.

Les huits discordances ont été retestés avec les coffrets IMMULITE Herpès I & II IgG et le coffret A, ainsi qu'un troisième dosage, le coffret B (un dosage microplaque ELISA disponible dans le commerce). Les retests avec le dosage IMMULITE ont confirmé les résultats IMMULITE initiaux pour 7/8 des discordances. Les retests avec le coffret A ont confirmé les résultats initiaux du coffret A pour 4/8 des discordances. La troisième méthode, le coffret B, concordait avec 2/8 des discordances IMMULITE et concordait avec 6/8 des discordances du coffret A. Les quatre indéterminés ont également été retestés avec la méthode intiale qui avait donné les résultats indéterminés. Le retest a résolu le statut idéterminé de ces quatres cas et le test IMMULITE Herpès I & II IgG concordait avec le coffret A pour 3/4 des cas.

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

Le Système Qualité de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. est certifié ISO 13485.

Italiano

IMMULITE 2000 Herpes I & II IgG

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE 2000 — per la determinazione qualitativa degli anticorpi IgG anti-Virus dell'Herpes Simplex (HSV) tipo I e II nel siero umano, quale ausilio nella determinazione dello stato sierologico vs. l'HSV I & II.

Codice : **L2KHVG6** (600 test)

Codice del test: **HVG** Colore: **Rosa Scuro**

Riassunto e spiegazione del Test

Il virus dell'Herpes simplex (HSV) è un virus a diffusione mondiale noto per provocare infezioni acute e ricorrenti nell'uomo. Il virus si annida nelle mucose (occhi, genitali, bocca) e si replica localmente.[4,6] Le infezioni nei neonati contratte alla nascita possono provocare danni neurologici fino alla morte.[5] In una piccola porzione di individui infettati, il virus può annidarsi nei gangli nervosi provocando infezioni latenti e ricorrenti.[1]

Negli anni '60 è stato scoperto che il virus dell'Herpes si distingue in due tipi distinti, HSV-I ed HSV-II. L'HSV-I è associato primariamente alle infezioni oculari ed orali, mentre l'HSV-II provoca infezioni ai genitali.[6] Tuttavia, l'HSV tipo I e tipo II hanno diversi antigeni in comune. Può essere necessario l'utilizzo di anticorpi monoclonali specifici o il mappaggio dell'endonucleasi di restrizione per tipizzare le diverse catene.[2,7]

Le infezioni da HSV tipo I o tipo II possono differire nelle loro manifestazioni cliniche e nella loro gravità. La risposta immunitaria dell'ospite può giocare un ruolo importante nel controllo della gravità dell'infezione primaria o di infezioni riattivate. I neonati che contraggono l'infezione alla nascita ed i pazienti immunocompromessi sono fortemente a rischio.[3]

Mentre si consiglia di isolare il virus nel tessuto di coltura per la diagnosi dell'infezione attiva, il test sierologico può fornire informazioni preziose nella gestione di popolazioni ad elevato rischio quali donne in gravidanza.

Principio del procedimento

IMMULITE 2000 Herpes I & II IgG é un enzima di fase solida, chimico luminescente, immuno-analisi a due fasi.

Cicli di Incubazione: 2 × 30 minuti.

Raccolta del Campione

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

Campioni emolizzati possono indicare un trattamento poco idoneo del campione prima dell'arrivo in laboratorio per questo i risultati devono essere interpretati con prudenza.

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 della centrifugazione. 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 Herpes I & II IgG non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume Richiesto: 10 µL di siero.

Conservazione: 3 giorni a 2–8°C o 6 mesi a –20°C.[11]

Fattore Automatico di Prediluizione: 20.

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.



ATTENZIONE! POTENZIALE PERICOLO BIOLOGICO
Contiene materiale di origine umana. Ciascuna donazione di sangue o componenti ematici umani è stata testata con metodi approvati dalla FDA per rilevare la presenza di anticorpi al virus dell'immunodeficienza umana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2), nonché per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e gli anticorpi al virus dell'epatite C (HCV). I risultati del test sono stati negativi (non ripetutamente reattivi). Nessun test offre assicurazione completa che questi o altri agenti infettivi siano assenti; questo materiale va trattato utilizzando le corrette prassi di laboratorio e le precauzioni universali.[12-14]

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale portatore e trasmettitore di agenti patogeni.

Reagenti: Conservare a 2–8°C. Scartare in conformità alle leggi applicabili.

La sferetta è coattata con un antigene virale HSV I & II *inattivato*, tuttavia, occorre fare attenzione nell'utilizzo o nell'eliminazione dei reagenti a causa della possibile presenza del virus residuo.

Seguire le precauzioni universali, e maneggiare tutti i componenti come se fossero capaci di trasmettere agenti infettivi. Sono stati analizzati i materiali di sorgente dal sangue umano e sono stati trovati non reattivi per sifilide; per anticorpi ad HIV 1 e 2; per l'antigeno superficiale dell'epatite B; e per anticorpi all'epatite C.

E' stata aggiunta Sodio Azide a concentrazioni inferiori a 0,1 g/dL come conservante. Al momento dell'eliminazione, irrorare con molta acqua per evitare la formazione di azidi metalliche potenzialmente esplosive nelle tubature di piombo e di rame.

I risultati del test anti-HSV I & II IgG determinati per un dato campione con dosaggi di diversi produttori possono variare a causa delle differenze nei metodi utilizzati e nella specificità dei reagenti. Quindi, i risultati riportati dal laboratorio al medico devono includere quanto segue: “I seguenti risultati sono stati ottenuti con il dosaggio IMMULITE 2000 Herpes I & II IgG EIA. I risultati ottenuti con dosaggi di altri produttori non sono intercambiabili.”

Sottostrato chemiluminescente: Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce del sole diretta. (Vedere l'inserimento).

Acqua: Utilizzare 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 Herpes I & II IgG (L2HVG12)
Con codice a barre. 200 biglie coattate con un antigene HSV tipo I (catena MacIntyre) e antigene HSV tipo II (catena G) (entrambi gli antigeni sono parzialmente purificati da lisati di cellule infette). Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KHVG6: 3 confezioni.

Porta Reagente Herpes I & II IgG (L2HVGA2)
Con codice a barre. 11,5 mL di una soluzione tampone. 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con un anticorpo anti-IgG umane in un tampone. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KHVG6: 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.

Calibratore Herpes I & II IgG (LHVGR)
4 mL di siero umano con IgG reattive anti HSV I & II, in un tampone, con conservanti. Il Calibratore serve come Cutoff del dosaggio. Stabile a 2–8°C per 14 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KHVG6: 2 flaconi.

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste sulle provette delle aliquote (fornite col kit) cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore.

Controlli Herpes I & II IgG (LHVGC1, LHVGC2)
LHVGC1 (Controllo Negativo): 2,0 mL di controllo negativo contenente siero umano con IgG non reattive all'HSV I e II, con conservanti. **LHVGC2 (Controllo Positivo):** 2,0 mL di controllo positivo contenente siero umano con IgG reattive all'HSV I e II, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 14 giorni dopo l'apertura o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KHVG6: 2 set.

Il software IMMULITE 2000 effettua diluizioni automatiche interne dei campioni e dei controlli, e i risultati vengono inseriti nel database CQ. Inserire i controlli come controlli.

Per i range dei controlli fare riferimento alla metodica degli stessi.

Diluente del Campione IgG/IgM (L2IGZ2)
Per la diluzione sul luogo dei campioni dei pazienti e dei controlli. 55 mL concentrato e (pronto all'uso) di una matrice proteina non umana/tampone con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KHVG6: 1 flaconi.

Vengono Fornite Le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm cosicchè i codici a barre possano essere letti dal lettore interno.
L2KHVG6: 5 etichette

Componenti del kit Fornite Separatamente

Diluente del Campione IgG/IgM (L2IGZ2)
Per la diluzione sul luogo dei campioni dei pazienti e dei controlli. 55 mL concentrato e (pronto all'uso) di una matrice proteina non umana/tampone con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2IGZ2: 1 flaconi.

Vengono Fornite Le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm cosicchè i codici a barre possano essere letti dal lettore interno.
L2IGZ2: 5 etichette.

L2SUBM: Substrato Chemiluminescente
L2PWSM: Tampone di Lavaggio
L2KPM: Kit di Pulizia dell'Ago
LRXT: Tubi di Reazione (monouso)
L2ZT: 250 provette per il Diluente del Campione (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 tappini per provette del Diluente del Campione.

Materiale Richiesto
Pipette; acqua distillata o deionizzata.

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per: preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 4 settimane

Campioni per il Controllo di Qualità: I controlli Herpes I & II IgG forniti con il kit devono essere utilizzati come materiale per monitorare le prestazioni del dosaggio al cutoff. Il Controllo Positivo viene utilizzato per validare il dosaggio IMMULITE 2000 Herpes I & II IgG a livello clinico per la determinazione dello stato sierologico del paziente.

Per i range dei controlli, fare riferimento alla metodica dei Controlli stessi.

Si possono eseguire ulteriori controlli secondo le linee guida o le normative locali, statali e/o federali o secondo quanto previsto dagli organismi di accreditamento.

Se i Controlli Herpes I & II IgG non fornissero i risultati attesi, e nel caso in cui altri metodi per correggere i risultati non fossero efficaci, occorrerebbe effettuare una ricalibrazione. La procedura per la ricalibrazione e per determinare e

correggere i risultati fuori range è descritta in dettaglio nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

I risultati dei pazienti devono essere riportati solo se i risultati del Controllo di Qualità sono accettabili. Se i risultati del QC sono inaccettabili, i campioni relativi a quella seduta devono essere ridosati.

Calcolo del Cutoff e Rapporto S/CO: E' stato determinato il Cutoff Master del dosaggio a partire da campioni rappresentativi per ottenere una sensibilità ed una specificità ottimali.

Il cutoff è fissato uguale alle conte medie per secondo (cps medio) del calibratore (dalla calibrazione più recente) moltiplicato per il Parametro 1 della Curva. (Vedi i campi “Low Adjustor CPS” e “Curve Parameter 1” sullo schermo dell'IMMULITE 2000, cui si può accedere dal menù attraverso Data Entry: Kit Entry).

Il calcolo del rapporto segnale/cutoff (s/co) è effettuato utilizzando la seguente formula:

$$\text{RapportoS/CO} = \frac{\text{Cps del Campione o del Controllo}}{\text{Cps del Calibratore Medio} \times \text{P1}}$$

Il calcolo ed il report dei risultati qualitativi (reattivo / non reattivo / indeterminato) ed i risultati del rapporto s/co vengono automaticamente gestiti dall'IMMULITE 2000.

Un risultato è “Indeterminato” se le conte per secondo relative a quel campione rientrano entro ±10% del cutoff. Un risultato è “reattivo” se le conte del campione sono *al di sopra* del range indeterminato, e “non reattivo” se il risultato è *al di sotto* di questo range.

Interpretazione dei Risultati

- Un risultato **"Reattivo"** (rapporto ≥1,1) indica che sono stati identificati nel campione anticorpi IgG anti-HSV I & II. (il dosaggio non differenzia tra anticorpi anti HSV I o HSV II)
- Un risultato **"Non reattivo"** (rapporto <0,9) indica che non sono stati identificati nel campione anticorpi IgG anti-HSV I & II
- Qualsiasi risultato **"Indeterminato"** (rapporto tra 0,9 e <1,1) deve essere ritestato. Campioni che continuano ad essere "Indeterminati" devono essere ridosati utilizzando un metodo alternativo, o occorre prelevare un secondo campione — se possibile — entro un periodo di tempo ragionevole (ad es., una settimana).

La presenza di anticorpi IgG anti HSV I o II è indicativa di una precedente esposizione al virus. Un campione singolo può solo essere utilizzato per determinare lo stato sierologico dell'individuo.

La grandezza dei risultati misurati (cps) al di sopra del Cutoff non è indicativo del quantitativo totale di anticorpi individuati.

I valori attesi

Individui infettati da HSV I o II possono non presentare livelli rilevabili di anticorpi IgG nei primi stadi dell'infezione. I livelli di anticorpi IgG anti-HSV iniziano ad elevarsi una o due settimane dopo l'infezione primaria. Il picco viene raggiunto da 6 ad 8 settimane, quindi declina gradualmente nel tempo. I livelli anticorpali possono diminuire fino a livelli non rilevabili tra periodi di riattivazione, un paziente può quindi presentare un risultato “non reattivo” nonostante una precedente esposizione al virus.[1,3,6] La riattivazione del virus può o non può risultare in livelli non rilevabili con il dosaggio IMMULITE 2000 Herpes I & II IgG.

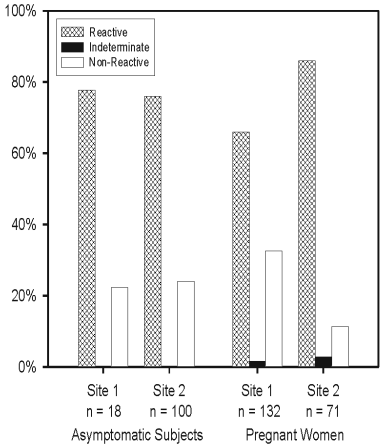
La prevalenza può variare a causa di differenze geografiche e di popolazione. Quindi, ogni laboratorio deve stabilire i propri range di riferimento.

Sono stati condotti studi con soggetti presumibilmente sani ed asintomatici con il dosaggio IMMULITE Herpes I & II IgG in due Centri negli Stati Uniti. In un Centro (sito 1) nel Nord-Ovest degli Stati Uniti si trattava di 18 pazienti che effettuavano uno screening pre-assunzione (10 femmine ed 8 maschi) con età compresa tra i 26 ed i 42 anni (i campioni sono stati conservati a 2–8°C nel caso in cui il dosaggio è stato effettuato entro 4 giorni, o congelati a –20°C). In un secondo Centro nel Sud-Ovest degli Stati Uniti, si trattava di 100 donatori di sangue (54 femmine e 46 maschi) con età compresa tra i 17 e i 71 anni (i campioni sono stati prelevati e congelati).

La prevalenza della reattività all'HSV I & II è stata del 78% (Sito 1) e del 76% (Sito 2) in queste due distinte collocazioni geografiche negli Stati Uniti.

Questi studi hanno compreso anche 132 (Sito 1) e 71 (Sito 2) donne in gravidanza, con età compresa tra i 16 ed i 43 anni (Sito 1) e tra i 14 ed i 48 anni (Sito 2). La prevalenza della reattività all'HSV I & II in questa popolazione specifica in questi due siti è stata del 66% e dell'86%, rispettivamente.

Queste prevalenze sono simili a quelle riportate in letteratura.[9] Tuttavia, la prevalenza può variare a causa di differenze geografiche o di popolazione. La distribuzione dei pazienti in queste due popolazioni di questi due Centri è presentata nel grafico che segue:



Limiti

I risultati del test devono essere interpretati nel contesto dell'anamnesi clinica del paziente, della sintomatologia e di altri risultati di laboratorio.

La presenza di anticorpi IgG in un singolo campione non è sufficiente a distinguere tra infezione attiva o pregressa.

Un'infezione HSV primaria o acuta deve esser confermata da una coltura dell'HSV da un campione del paziente.[6,7]

Pazienti con sospetta infezione primaria o attiva devono essere testati per la presenza di anticorpi IgM anti-HSV.

Per la determinazione della sieroconversione da *non reattivo* a *reattivo*, occorre prelevare due campioni di siero da tre a quattro settimane dopo, durante la fase acuta e di convalescenza dell'infezione. Il campione della fase acuta deve essere conservato e testato in parallelo con il campione della fase di convalescenza.

Individui con infezioni acute da HSV possono non presentare livelli rilevabili di anticorpi IgG nei primi stadi della malattia.

Un innalzamento nei livelli anticorpali IgG dell'HSV I & II può verificarsi in pazienti con infezioni da virus della varicella-zoster (VZV), Epstein-Barr Virus (EBV) o Citomegalovirus (CMV) dovute alla crossreattività antigenica all'interno della famiglia dei virus dell'Herpes.

Occorre prudenza nell'interpretazione dei risultati in pazienti HIV, in pazienti sottoposti a terapia immunosoppressiva, o in pazienti con altri disturbi che portano all'immunosoppressione.

Le prestazioni di questo dosaggio non sono state determinate per l'utilizzo con campioni provenienti da neonati, sangue del cordone ombelicale o pazienti pre-trapianto.

Non è stato determinato nessun effetto prozona attraverso livelli anticorpali prossimi a 100 000 000 cps.

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 Herpes I & II IgG sono espressi come rapporto segnale/cutoff. Se non diversamente specificato, tutti i risultati sono stati generati su campioni di siero prelevati in provette senza anticoagulanti, barriere di gel o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.

Precisione: I campioni sono stati dosati in duplicato in 40 sedute per un totale di 80 replicati. (Vedi tabella "Precision".)

Specificità: Sono stati effettuati studi per determinare la cross-reattività o l'interferenza che possono verificarsi utilizzando il dosaggio IMMULITE Herpes I & II IgG. I campioni di siero sono stati ottenuti da laboratori di riferimento e caratterizzati dal Dosaggio in Fluorescenza Indiretta (IFA) o Immunofluorescenza Anti-Complemento (ACIF) come contenenti anticorpi IgG anti virus dell'herpes, incluso il Citomegalovirus (CMV), Il virus della Varicella-Zoster (VZV) l'Epstein-Barr virus (EBV), cosiccome il *Mycoplasma pneumoniae*, ed il Parvovirus B19. Sono stati dosati dieci campioni per tipo utilizzando il kit IMMULITE Herpes I & II IgG ed un kit disponibile in commercio HSV I e HSV II IgG (Kit C). A causa dell'elevata incidenza dell' HSV I e HSV II nella popolazione generale, non sono stati effettuati studi di crossreattività utilizzando *solo* sieri non reattivo per l'HSV I e HSV II.

I risultati indicano che approssimativamente dal 70 all'80% dei campioni erano reattivo per l'HSV I & II, riflettendo l'elevato tasso di reattività (fino all'80%) nella popolazione adulta.[10] E' possibile che l'ulteriore 20% di reattivo descritta nella tabella sottostante sia dovuta a crossreazioni. (Vedere la tabella "Specificità".)

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 539 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.

Tipo di Campione Alternativo: Per determinare l'effetto di campioni alternativi, è stato prelevato del sangue da 20 volontari in provette semplici, eparinizzate, EDTA e Becton Dickinson vacutainer SST®. Tutti i campioni si sono analizzati mediante il procedimento di Herpes IgG dell'IMMULITE 2000, con i risultati seguenti.

(Eparina) = 0,96 (Siero) + 0,64
r = 0,990

(SST) = 0,94 (tubi semplici) + 0,68
r = 0,994

(EDTA) = 0,95 (Siero) + 0,42
r = 0,995

Valore medio:
18,7 (Siero)
18,5 (Eparina)
18,3 (SST)
18,1 (EDTA)

Comparazione di Metodi: Il dosaggio è stato comparato al kit IMMULITE Herpes I & II IgG utilizzando campioni di 227 donatori di sangue. Tutti i campioni sono stati prelevati freschi e congelati per l'analisi. Quattro campioni erano prossimi al cutoff. (Vedi la Tabella "Method Comparison".)

Prestazioni Cliniche

Sulla base della correlazione tra i dosaggi IMMULITE Herpes I & II IgG ed IMMULITE 2000 Herpes I & II IgG (vedi Comparazione dei Metodi), il cliente può ragionevolmente attendersi prestazioni cliniche comparabili.

Le prestazioni cliniche del dosaggio IMMULITE Herpes I & II IgG sono state studiate utilizzando un pannello proficiency CMV/HSV ottenuto dall'United States Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

Lo studio retrospettivo condotto internamente è stato effettuato dosando il pannello di sieri del CDC con il dosaggio IMMULITE Herpes I & II IgG e inviando i risultati al CDC per l'identificazione (unmasking). I risultati sono presentati come medie per fornire ulteriori informazioni sulle prestazioni di questo

dosaggio con un pannello nascosto e caratterizzato. Ciò non comporta un'approvazione del dosaggio da parte del CDC.

Il pannello si componeva per il 72% di campioni reattivo e per il 28% di campioni non reattivo. Il dosaggio IMMULITE Herpes I & II IgG ha dimostrato il 97% di correlazione totale con i risultati del CDC. I risultati interni ottenuti correlavano per il 99% con i campioni reattivo e per il 93% con i campioni non reattivo.

Sono anche stati effettuati studi sulle prestazioni cliniche del dosaggio IMMULITE Herpes I & II IgG e di due altri sistemi disponibili in commercio (Kit A e Kit B) in modo concomitante in due Centri indipendenti.

Centro 1
In uno studio clinico prospettivo condotto in un centro medico localizzato nel Nord-Ovest degli Stati Uniti sono stati testati un totale di 200 campioni di siero. Dei 200 campioni, 18 sono stati ottenuti da pazienti in apparente buono stato di salute, asintomatici, soggetti sottoposti a screening pre-assunzione, 132 campioni sono stati ottenuti da donne in gravidanza ed i rimanenti sono stati ottenuti da pazienti affetti da varie patologie e condizioni cliniche (AIDS, malattie cardiache, pazienti immunocompromessi, pazienti sottoposti a trapianto di rene/dialisi). Si trattava di 33 maschi e 167 femmine, di età compresa tra neonati e 73 anni. Tutti e 200 i campioni sono stati conservati a 2–8°C nel caso in cui il dosaggio sia stato effettuato entro 4 giorni, altrimenti i campioni sono stati congelati a –20°C.

Tutti e 200 i campioni sono stati valutati con il kit IMMULITE Herpes I & II IgG e con il Kit A, un dosaggio immunoenzimatico disponibile in commercio per l'HSV I & II IgG (ELISA).

	IMMULITE Herpes I & II IgG		
Kit A	Reattivo	Indeterminato	Non reattivo
Reattivo	139	1	0
Indeterminato	0	0	1
Non reattivo	2	1	56

Correlazione: 99,0%

Due campioni sono stati identificati come indeterminati con il dosaggio IMMULITE Herpes I & II IgG, ed uno con il Kit A.

I due casi discrepanti sono stati ripetuti sia con il kit IMMULITE Herpes I & II IgG che con il Kit A, i risultati ripetuti sono rimasti gli stessi di quelli ottenuti con il test iniziale.

Centro 2
Nel secondo studio clinico prospettivo condotto presso un laboratorio di virologia nel Sud-Ovest degli stati Uniti, sono stati testati un totale di 202 campioni di siero. Dei 202 campioni, 100 provenivano da pazienti in apparente buono stato di salute, individui asintomatici (donatori), 71 provenivano da donne in gravidanza sottoposte a screening per la Rubella e 31 provenivano da pazienti sottoposti a screening sierologico per le malattie infettive (Rubella, CMV, Toxoplasma, AIDS). Si trattava di 57 uomini e 145 donne con età compresa tra 2 giorni e 71 anni.

Tutti e 202 i campioni (precedentemente prelevati e congelati) sono stati testati con il dosaggio IMMULITE Herpes I & II IgG e con il Kit A, un dosaggio immunoenzimatico disponibile in commercio (ELISA) per l'HSV I & II IgG.

	IMMULITE Herpes I & II IgG		
Kit A	Reattivo	Indeterminato	Non reattivo
Reattivo	153	0	6
Indeterminato	1	0	0
Non reattivo	2	3	37

Correlazione: 96,0%

Quattro campioni sono stati identificati come indeterminati sia con il kit IMMULITE che con il Kit A.

Gli otto casi discrepanti sono stati studiati attraverso dosaggi ripetuti sia con il kit IMMULITE Herpes I & II IgG che con il Kit A, ed un terzo metodo, Kit B (un dosaggio in micropiatra ELISA disponibile in commercio). I test IMMULITE ripetuti hanno confermato i risultati iniziali ottenuti con l'IMMULITE per i 7/8 casi discrepanti. I test ripetuti con il kit A hanno confermato i 4/8 risultati iniziali. Il terzo, Kit B, concordava con 2/8 casi che risultavano discrepanti con IMMULITE e concordava con il Kit A in 6/8 casi discrepanti. I quattro casi indeterminati sono stati anche ripetuti

con il metodo iniziale che ha prodotto, a sua volta, risultati indeterminati. La ripetizione del test ha risolto lo stato indeterminato di questi quattro casi, il dosaggio IMMULITE Herpes I & II IgG era in accordo con il Kit A in 3/4 casi.

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore Nazionale.

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

Herpes I & II IgG

Utilização: Para uso diagnóstico *in vitro* com os Analisadores dos Sistemas IMMULITE 2000 concebido para a detecção qualitativa de anticorpos de IgG para o vírus de herpes simplex (HSV) tipos I e II (HSV) no soro humano, como auxiliar na determinação de estados sorológicos para HSV I e II.

Números de catálogo:
L2KHVG6 (600 testes)

Código do teste: **HVG**.
Cor: **Rosa escuro**

Sumário e explicação do teste

O vírus herpes simplex é um vírus ubíquoto e antigo, conhecido por provocar infecções agudas e recorrentes em humanos. O vírus entra nas membranas mucosas (ocular, genital ou oral) e replica-se localmente.[4,6] A infecção de recém-nascidos durante a passagem pelo canal de nascimento pode resultar em danos neurológicos e morte.[5] Num pequeno número de indivíduos infectados, o vírus pode entrar no gânglio do canal sensor, resultando em infecções recorrentes e latentes.[1]

Em 1960, foi reconhecido que o HSV consistia de dois tipos distintos, HSV-I e HSV-II. O HSV-I é considerado estar associado principalmente com a infecção ocular e oral, enquanto o HSV-II é considerado ser uma infecção genital.[6] Contudo, os tipos HSV-I e II compartilham vários antígenos comuns, e o uso de anticorpos monoclonais específicos ou rastreio de endonuclease de restrição podem ser necessários para detectar tipos individuais.[2,7]

As infecções com HSV tipo I ou tipo II pode diferir nas suas manifestações clínicas e gravidade. A resposta imune do hospedeiro pode desempenhar um papel importante no controlo da gravidade das infecções primárias ou reactivadas. Aqueles que correm os riscos mais elevados são os recém-nascidos, que entram em contacto com a infecção durante a passagem através do canal de nascimento, e doentes imunocomprometidos.[3]

Embora o isolamento do vírus na cultura do tecido seja recomendado para o diagnóstico de infecções activas, o teste sorológico pode fornecer informações valiosas na gestão de populações em risco, tais como mulheres grávidas.

Princípio do Procedimento

IMMULITE 2000 Herpes I & II IgG é um Imunoensaio enzimático de fase sólida, em dois ciclos por quimioluminescência.

Ciclos de incubação: 2 × 30 minutos.

Colheita

Recomenda-se o uso de uma ultra centrífuga para clarear amostras lipémicas.

Amostras hemólisadas podem indicar um tratamento incorrecto da amostra antes da sua chegada ao laboratório, devendo os resultados serem interpretados com precaução.

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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 Herpes I & II IgG não foram ainda testados com todas as possiveis 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: 10 µL soro.

Estabilidade: 3 dias a 2–8°C, ou 6 meses a –20°C.[11]

Factor de pré-diluição automática: 20.

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.



PRECAUÇÃO! POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO
Contém material de origem humana. Cada dádiva de sangue ou componente de sangue humano foi testada pelos métodos aprovados pela FDA quanto à presença de anticorpos dos vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e tipo 2 (VIH-2), bem como do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e dos anticorpos do vírus da hepatite C (VHC). Os resultados dos testes foram negativos (não repetidamente reativos). Nenhum teste oferece total garantia de que estes ou outros agentes infeciosos estejam ausentes; este material deve ser manuseado de acordo com as boas práticas laboratoriais e precauções universais[12-14].

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as leis aplicáveis.

A esfera é revestida com *antigénio viral de HSV I e II inactivado*. Contudo, deve-se ter cuidado devido à possível presença de vírus residuais quando se trabalha ou se rejeita materiais fornecidos.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas obtidas de soro humano foram testadas, dando 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.

Os resultados de anti-HSV I & II IgG obtidos para uma amostra específica com doseamento de diferentes fabricantes podem variar devido à diferença nos métodos de doseamento e especificidade do reagente. Os resultados enviados pelo laboratório ao médico devem incluir: “Os resultados seguintes foram obtidos com o IMMULITE 2000 Herpes I & II IgG EIA. Os resultados obtidos de métodos de doseamentos de outros fabricantes não podem ser permutados."

Substrato quimioluminescente: Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula do substrato).

Água: Use água destilada ou deionizada.

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 Herpes I & II IgG (L2HVG12)
Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas de *aniígénio viral de HSV I e II inactivado*. Contudo, deve-se ter cuidado devido à possível presença de vírus residuais quando se trabalha ou se rejeita materiais fornecidos. Estável até á data de validade a 2–8°C.
L2KHVG6: 3 embalagens.

Embalagem de Reagente de Herpes I & II IgG (L2HVGA2)
Com código de barras. 11,5 mL de uma solução tamponizada. 11,5 mL fosfatase alcalina (intestino de bezerro) com anticorpo IgG anti-humano tamponizada. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KHVG6: 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.

Ajuste Herpes I & II IgG (LHVGR)
4 mL de soro humano com IgG, reactivo ao HSV I e II, em tampão, com conservante. O Ajuste funciona como Cutoff. Estável, após a abertura, durante 14 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KHVG6: 2 frascos.

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas de alíquota apropriadas (fornecidas com o Dispositivo) em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Controlos de Herpes I & II IgG (LHVGC1, LHVGC2)
LHVGC1 (Controlo Negativo): 2 mL de soro humano com IgG não reactivo com HSV I e II, com conservante. **LHVGC2 (Controlo Positivo):** 2 mL de soro humano com IgG reactivo com HSV I e II, com conservante. Estável, após a abertura, durante 14 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KHVG6: 2 conjuntos.

O software do IMMULITE 2000 permite a auto-diluição de amostras de controlo, e os resultados serão localizados na base de dados do CQ. Introduzir os controlos como controlos.

Para conhecer a gama de valores da razão dos controlos, consultar o boletim incluso no Dispositivo.

Diluente de Amostra de IgG/IgM (L2IGZ2)
Para a diluição no aparelho de amostras de doentes e controles. 55 mL concentrado (pronto a usar), de matriz proteíca tamponada de origem não humana, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KHVG6: 1 frasco.

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2KHVG6: 5 etiquetas.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Diluente de Amostra de IgG/IgM (L2IGZ2)
Para a diluição no aparelho de amostras de doentes e controles. 55 mL concentrado (pronto a usar), de matriz proteíca tamponada de origem não humana, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2IGZ2: 1 frasco

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2IGZ2: 5 etiquetas.

L2SUBM: Substrato quiomioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Dispositivo de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)
L2ZT: 250 Tubos de diluente da amostra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

Também necessário
Pipetas de transferência de amostra; água destilada ou desionizada.

Procedimento de doseamento

Ter em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000.

Consultar o Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000 relativamente aos procedimentos de preparação, diluição, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável: 4 semanas.

Amostras de controlo de qualidade: Os controlos de Herpes I & II IgG fornecidos com o Dispositivo devem ser usados como material de controlo de qualidade para monitorizar o desempenho do ensaio na zona do Cutoff. O controlo positivo é usado para validar o ensaio do IMMULITE 2000 Herpes I & II IgG num nivel critico quando se determina o estado serológoco do doente.

Para conhecer a gama de valores da razão do cos controlos, consultar o boletim incluso no Dispositivo.

Podem ser testados controlos adicionais de acordo com as directrizes ou requesitos locais, ou de organizações de acreditação.

Se os controlos de Herpes I & II IgG não confirmarem os resultados esperados, deve proceder-se a um reajustede modo a corrigir os valores de controlo que falharam. O procedimento de reajuste é descrito em detailhe no Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000.

Os resultados dos doentes não devem ser reportados até que os resultados do CQ sejam aceitáveis. Se os resultados do CQ não forem aceitáveis as amostras dos doentes devem ser repetidas.

Calculo do Cutoff e da razão Amostra/CO: O Cutoff do ensaio foi determinado a partir de amostras representativas de modo a obter-se uma sensibilidade e especificidade óptima.

O valor do Cutoff é igual à média das contagens por segundo (média de cps) do Ajuste (do ajuste mais recente) multiplicado pelo parâmetro 1 da curva. (Veja os campos “CPS do Ajuste Baixo” e “Parâmetro 1 da Curva ” no ecrã de Informação do kit IMMULITE 2000, a que pode aceder-se no menu pela Entrada do Kit).

O calculo da razão sinal da amostra/CO é feita usando a seguinte fórmula:

$$\text{Razão S/CO} = \frac{\text{Cps das amostras ou controlos}}{\text{Cps da média do Ajuste} \times \text{P1}}$$

Os cálculos qualitativos (reactivo / não reactivo / indeterminado) e a razão S/CO são efectuados automaticamente pelo IMMULITE 2000.

O resultado da amostra é “indeterminado” se os CPS da amostra estiverem no intervalo de ±10% do cutoff. O resultado é “reactivo” se os CPS da amostra forem superiores ao intervalo em que se considera indeterminado, e “não reactivo” se forem inferiores.

Interpretação dos resultados

- Um resultado **"reactivo"** (relação ≥1,1) indica que foram detectados anticorpos de Herpes IgG na amostra do paciente. (O ensaio não diferencia entre os anticorpos para HSV I ou para HSV II.)
- Um resultado **"não reactivo"** (relação <0,9) indica que não foram detectados anticorpos de Herpes IgG na amostra do paciente.
- Qualquer resultado “**indeterminado**” (razão s/co entre 0,9 e 1,1) deverá ser testado de novo. As amostras que continuam a testar como “indeterminadas” deverão ser testadas por um método alternativo, ou uma segunda amostra deve ser colhida – se possível – dentro de um período razoável de tempo (por exemplo, uma semana).

A presença de anticorpos IgG para o HSV I ou II é uma indicação de prévia exposição ao vírus. Uma única amostra pode ser usada para determinar o estado serológico do indivíduo.

A intensidade dos resultados medidos (cps) acima do cutoff não é indicativa da quantidade total do anticorpos detectados.

Valores de Referência

Indivíduos infectados com HSV I ou II podem não exibir níveis detectáveis de anticorpo IgG na fase inicial da infecção. Os niveis de IgG para o HSV começam a crescer uma a duas semanas após a infecção primária. Os níveis atingem o seu pico em 6 a 8 semanas, e decrescem gradualmente com o tempo. Os niveis de anticorpos podem decrescer até niveis indetectáveis entre períodos de reactivação; assim o doente pode ter um esultado "não reactivo" apesar de uma exposição anterior ao vírus.[1,3,6] A reactivação do vírus pode ou não resultar em niveis indetectáveis de anticorpos no

ensaio do IMMULITE 2000 Herpes I & II IgG.

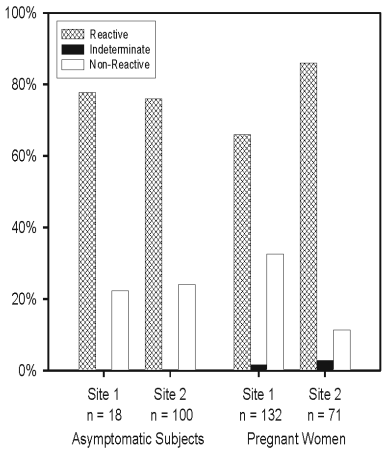
A prevalênciada pode variar em função da localização geográfica e diferenças na população.

Estudos com individuos assintomáticos, presumivelmente saudáveis foram efectuados com o ensaio IMMULITE Herpes I & II IgG em dois locais nos EUA. Num dos locais (Local 1) no noroeste dos EUA, foram testados 18 individuos (10 mulheres e 8 homens), com idades entre 26 e 42 anos (as amostras foram guardadas a 2–8°C se o ensaio for realizado em 4 dias, de outro modo as amostras foram congeladas a –20°C). No segundo local no sudoeste dos EUA foram testadas 100 amostras de dadores (54 mulheres e 46 homens), com idades que variam entre os 17 e os 71 anos (as amostras foram colhidas e congeladas).

A prevalencia de HSV I & II foi de 78% (Local 1) e 76% (Local 2) nestas duas localidades dos Estados Unidos.

Estes estudos também incluiram included 132 (Local 1) e 71 (Local 2) mulheres grávidas, com idades entre16 e 43 anos (Local1) e entre 14 e 48 anos (Local 2). A prevalência de HSV I & II nesta população especifica nestes dois locais é de 66% e 86%, respectivamente.

A prevalencia é similar aos relatados na literatura.[9] Contudo, a prevalência pode variar devido a diferenças geográficas e na população. A distribuição dos doentes nas duas populações destes dois locais estão representados na tabela seguinte.



Limitações

Os resultados do teste devem ser tirados dentro do contexto da história clínica do paciente, sintomatologia e outros resultados laboratoriais.

A presença de anticorpos IgG numa única amostra não é suficiente para distinguir entre a infecção aguda ou prévia.

A infecção primária ou aguda por HSV deverá ser confirmada pela cultura de HSV do doente.[6,7]

Os doentes suspeitos de terem infecção primária ou activa devem ser testados para a presença de anticorpos IgM para HSV.

Para a determinação da seroconversão, de não reactivo a reactivo, devem ser colhidas duas amostras com três a quatro semanas de intervalo, durante as fases aguda e de convalescência da infecção. A amostra da fase aguda e de convalescência.

Indivíduos com infecção aguda por HSV podem não apresentar nenhum anticorpo IgG detectável na fase primária da infecção.

Uma elevação no nível de anticorpos IgG do HSV I e II pode ocorrer em pacientes com infecções por vírus de varicela-zoster (VZV), Epstein-Barr (EBV) ou citomegalovírus (CMV) devido à reactividade cruzada antigénica dentro da família do vírus de herpes.

Os resultados de doentes com HIV, com terapia imunosupressora ou em doentes com desordens que levem á imunosupressão, devem ser interpretados com cautela.

As características de desempenho deste doseamento não foram estabelecidas para uso em amostras neonatais, sangue do cordão, ou pacientes de pré-transplante.

Não foi notado efeito prozona para níveis de anticorpos que se aproximem de 100 000 000 CPS.

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-se.

Características do Ensaio

Consulte Tabelas e Gráficos para dados *representativos* do desempenho do doseamento. Os resultados de Herpes I & II IgG são expressos pelo razão entre o sinal da amostra e o cutoff. Todos os resultados foram obtidos de amostras de soro colhidos em tubos sem anticoagulantes, barreiras de gel, aditivos promotores da coagulação.

Precisão: Amostras foram ensaiadas em duplicado 40 vezes num total de 80 réplicas. (Consulte a tabela "Precisão".)

Especificidade: Foram efectuados estudos internamente para determinar as reacções cruzadas ou interferências que possam ocorrer quando se usa o IMMULITE Herpes I & II IgG. As amostras de soro foram obtidas de laboratórios de referência e caracterizadas por ensaios de Fluorescência Indirecta (IFA) ou Anti-Complemento Imunofluorescente (ACIF) contendo anticorpos IgG para herpesvirus, incluindo citomegalovirus (CMV), varicella-zoster virus (VZV), Epstein-Barr virus (EBV), bem como *Mycoplasma pneumoniae*, e parvovirus B19. Dez amostras de cada tipo foram ensaiadas pelo IMMULITE Herpes I & II IgG e dispositivos para HSV I e HSV II IgG disponiveis comercialmente (Dispositivo C). Devido à alta incidencia de HSV I e HSV II na população em geral, não se realizaram estudos de reacções cruzadas utilizando apenas amostras não reactivas de HSV I e HSV II.

Os resultados indicam que aproximadamente 70 a 80% das amostras foram reactivas para HSV I & II, reflectindo a alta taxa de (maior que 80%) na população adulta.[10] É possivel que a taxa de positividade adicional de 20% apresentada na tabela abaixo seja devida a reacções cruzadas. (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.

Hemolise: A presença de hemoglobina em concentrações até 539 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipemia: A presença de trigliceridos em concentrações até 3 000 mg/dL não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Tipo de amostra alternativa: Para determinar o efeito de amostras alternatives, foi colhido sangue de 20 voluntários em tubos secos, com EDTA, heparinizados e tubos de vacum SST® da Becton Dickinson. Todas as amostras foram ensaiadas pelo método IMMULITE 2000 Herpes IgG, com os seguintes resultados.

(Heparina) = 0,96 (Soro) + 0,64
r = 0,990

(SST) = 0,94 (tubos simples) + 0,68
r = 0,994

(EDTA) = 0,95 (Soro) + 0,42
r = 0,995

Médias:
18,7 (Soro)
18,5 (Heparina)
18,3 (SST)
18,1 (EDTA)

Comparação de Métodos: O ensaio foi comparado com o IMMULITE Herpes I & II IgG usando amostras de 227 dadores. Todas as amostras foram colhidas e de seguida congeladas. Quatro amostras estão perto do cutoff. (Ver tabela de "**Comparação de Métodos**".)

Desempenho clínico

Com base na correlação entre os ensaios de IMMULITE Herpes I & II IgG e IMMULITE 2000 Herpes I & II IgG (ver Method Comparison), o utilizador deve esperar um desempenho clinico rasoávelmente comparável.

O desempenho clinico do IMMULITE Herpes I & II IgG foi estudado internamente usando um painel CMV/HSV

obtido no United States Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

O estudo foi conduzido ensaiando o painel do CDC com o IMMULITE Herpes I & II IgG e enviando os resultados para o CDC caracterização das amostras. Os resultados são apresentados como meio de comunicar informações adicionais do desempenho do ensaio com um painel de soros com a sua caracterização oculta. Isto não implica umaval do ensaio pelo CDC.

O painel é constituido por 72% de reactivos e 28% não reactivos. O IMMULITE Herpes I & II IgG demonstrou uma concordancia de 97% com os resultados do CDC. Dos resultados obtidos internamente, houve 99% de concordancia nas amostras reactivas e 93% nas amostras não reactivas.

Estudos de desempenho clinico do IMMULITE Herpes I & II IgG e dois outros sistemas disponiveis comercialmente (Dispositivo A e Dispositivo B) foram conduzidos em dois locais independentes.

Local 1
Num estudo clinico efectuado num centro medico no noroeste dos EUA, foram testadas um total de 200 amostras de soro. Das 200 amostras, 18 foram obtidas de individuos assintomáticos, presumivelmente saudáveis, 132 de mulheres grávidas e os restantes foram obtidos de doentes com uma miscelania de doenças (SIDA, doença cardiaca, imunocomprometidos, transplantados renais/hemodialisados). Eram 33 homens e 167 mulheres, com idades entre o recem nascido e os 73 anos. Todas as 200 amostras foram guardadas a 2–8°C quando o ensaio não foi realizado em 4 dias, ou então congeladas a –20°C.

As 200 amostras foram testadas com o IMMULITE Herpes I & II IgG e Dispositivos A, um ensaio de ELISA para HSV I & II IgG disponivel comercialmente.

	IMMULITE Herpes I & II IgG		
Dispositivo A	Reactivo	Indeterminado	Não reactivo
Reactivo	139	1	0
Indeterminado	0	0	1
Não reactivo	2	1	56

Concordancia: 99,0%

Duas amostras foram idenificadas como indeterminadas pelo IMMULITE Herpes I & II IgG, e uma pelo Dispositivo A, repetição comprovou o teste inicial.

Os dois casos discrepantes foram repetidos tanto com o IMMULITE Herpes I & II IgG como com o Kit A, tendo as repetições apresentado os mesmos valores dos testes iniciais.

Local 2
No Segundo estudo clinico efectuado no laboratório de virilogia de uma universidade no sudoeste dos EUA, foram testados um total de 202 soros. Das 202 amostras, 100 são de individuos assintomáticos, presumivelmente saudáveis (dadores de sangue), 71 mulheres grávidas sujeitas ao despiste da rubeola e 31 sujeitos a rastreio serológico de doenças infecciosas (rubeola, CMV, toxiplasmose,SIDA). Eram 57 homens e 145 mulheres, com idades compreendidas entre 2 dias e 71 anos.

As 202 amostras(congeladas) foram testadas com o IMMULITE Herpes I & II IgG e Dispositivo A, um ensaio de ELISA para HSV I & II IgG disponivel comercialmente.

	IMMULITE Herpes I & II IgG		
Dispositivo A	Reactivo	Indeterminato	Não reactivo
Reactivo	153	0	6
Indeterminado	1	0	0
Não reactivo	2	3	37

Concordância: 96,0%

Quatro amostras foram idenificadas como indeterminadas tanto pelo IMMULITE Herpes I & II IgG, como pelo Dispositivo A.

Os oito casos descrepantes foram investigados repetindo o IMMULITE Herpes I & II IgG e o Dispositivo A, e por um terceiro método, Dispositivo B (um Dispositivo ELISA disponivel comercialmente). Os testes do IMMULITE confirmaram os resultados iniciais de 7/8 casos discrepantes. Os testes do Dispositivo A confirmaram os resultados iniciais de 4/8 casos discrepantes. O terceiro método, Dispositivo B, concorda com os casos discrepantes do IMMULITE 2/8, e com os casos disdrepantes do Dispositivo A, 6/8. Os quatro casos indeterminados também foram repetidos

com o método inicial que dava resultados indeterminados. Os testes usados para resolver os indeterminados nestes quarto casos, e o IMMULITE Herpes I & II IgG estão em concordancia com o Dispositivo A em 3/4 dos casos.

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE® is a trademark of Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2009 Siemens Healthcare Diagnostics. All rights reserved.

Made in: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

2018-03-15

PIL2KHVG – 19

cc#EU23262, cc#EU23262A

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol Definition

IVD
En: In vitro diagnostic medical device
De: Medizinisches Gerät zur In-vitro Diagnose
Es: Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
Fr: Dispositif médical de diagnostic in vitro
It: Dispositivo medico per diagnostica in vitro
Pt: Dispositivo médico para diagnóstico in vitro

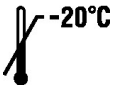
REF
En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo

En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante

EC REP
En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia

CE
En: CE Mark
De: CE-Kennzeichen
Es: Marca CE
Fr: Marque CE
It: Marchio CE
Pt: Marca CE

CE 0088
En: CE Mark with identification number of notified body
De: CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle
Es: Marca CE con número de identificación del organismo notificado
Fr: Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié
It: Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato
Pt: Marca CE, com número de identificação do organismo notificado

Symbol	Definition
	**En:** Consult instructions for use **De:** Bedienungshinweise beachten **Es:** Consulte las instrucciones de uso **Fr:** Consulter le mode d'emploi **It:** Consultare le istruzioni per l'uso **Pt:** Consulte as instruções de utilização
	**En:** Caution! Potential Biohazard **De:** Vorsicht! Biologisches Risikomaterial **Es:** ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial **Fr:** Avertissement ! Risque biologique potentiel **It:** Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico **Pt:** Atenção! Potenciais Riscos Biológicos
	**En:** Temperature limitation (2–8°C) **De:** Temperaturgrenze (2–8°C) **Es:** Limitación de temperatura (2–8°C) **Fr:** Limites de température (2–8°C) **It:** Limiti di temperatura (2–8°C) **Pt:** Limites de temperatura (2–8°C)
	**En:** Upper limit of temperature (≤ -20°C) **De:** Obere Temperaturgrenze (≤ -20°C) **Es:** Límite superior de temperatura (≤ -20°C) **Fr:** Limite supérieure de température (≤ -20°C) **It:** Limite superiore di temperatura (≤ -20°C) **Pt:** Limite máximo de temperatura (≤ -20°C)
	**En:** Lower limit of temperature (≥2°C) **De:** Mindesttemperatur (≥2°C) **Es:** Límite inferior de temperatura (≥2°C) **Fr:** Limite inférieure de température (≥2°C) **It:** Limite inferiore di temperatura (≥2°C) **Pt:** Limite mínimo de temperatura (≥2°C)

Symbol	Definition
	**En:** Do not freeze (> 0°C) **De:** Nicht einfrieren (> 0°C) **Es:** No congelar (> 0°C) **Fr:** Ne pas congeler (> 0°C) **It:** Non congelare (> 0°C) **Pt:** Não congelar (> 0°C)
	**En:** Do not reuse **De:** Nicht zur Wiederverwendung **Es:** No reutilizar **Fr:** Ne pas réutiliser **It:** Non riutilizzare **Pt:** Não reutilizar
	**En:** Keep away from sunlight **De:** Vor Sonneneinstrahlung schützen **Es:** Proteger de la luz solar **Fr:** Maintenir hors de portée de la lumière du soleil **It:** Non esporre alla luce del sole **Pt:** Manter afastado da luz solar
	**En:** Batch code **De:** Chargenbezeichnung **Es:** Número de lote **Fr:** Numéro de code du lot **It:** Codice lotto **Pt:** Código de lote
	**En:** Contains sufficient for (n) tests **De:** Es reicht für (n) Tests **Es:** Contiene suficiente para (n) pruebas **Fr:** Contient du matériel suffisant pour (n) tests **It:** Contiene materiale sufficiente per (n) test **Pt:** Contém o suficiente para (n) testes
2008-01	**En:** Date format (year-month) **De:** Datumsformat (Jahr-Monat) **Es:** Formato de fecha (año-mes) **Fr:** Format de la date (année-mois) **It:** Formato data (anno-mese) **Pt:** Formato de data (ano-mês)
	**En:** Use by **De:** Verwendbar bis **Es:** Fecha de caducidad **Fr:** A utiliser avant **It:** Usare entro **Pt:** Usar até
	**En:** Health Hazard **De:** Gesundheitsgefährdung **Es:** Peligro para la salud **Fr:** Dangereux pour la santé **It:** Pericolo per la salute **Pt:** Perigo para a saúde

Symbol	Definition
	**En:** Exclamation Mark **De:** Ausrufezeichen **Es:** Signo de exclamación **Fr:** Point d'exclamation **It:** Punto esclamativo **Pt:** Ponto de exclamação
	**En:** Corrosion **De:** Korrosion **Es:** Corrosión **Fr:** Corrosion **It:** Corrosione **Pt:** Corrosão
	**En:** Skull and Crossbones **De:** Totenkopf mit gekreuzten Knochen **Es:** Calavera y tibias cruzadas **Fr:** Tête de mort sur tibias croisés **It:** Teschio e tibie incrociate **Pt:** Caveira sobre tíbias cruzadas
	**En:** Environment **De:** Umwelt **Es:** Medio ambiente **Fr:** Environnement **It:** Ambiente **Pt:** Ambiente
BEAD PACK	**En:** Bead Pack **De:** Kugel-Container **Es:** Cartucho de bolas **Fr:** Cartouche de billes **It:** Contenitore di biglie **Pt:** Embalagem de esferas
TEST UNIT	**En:** Test Unit **De:** Testeinheit **Es:** Unidades de análisis **Fr:** Unité de test **It:** Test Unit **Pt:** Unidades de Teste
REAG WEDGE **REAG WEDGE A** **REAG WEDGE B** **REAG WEDGE D**	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste

Symbol	Definition
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL **CONTROL 1** **CONTROL 2** **CONTROL 3**	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo

Symbol	Definition
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol

Symbol	Definition
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

LH

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 LH

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the quantitative measurement of LH in serum, as an aid in clinical diagnosis.

Catalog Number: **L2KLH2** (200 tests), **L2KLH6** (600 tests)

Test Code: **LH** Color: **Red**

Summary and Explanation

Luteinizing hormone (lutropin, LH), a glycoprotein of 28,000 daltons, is secreted by the β-cells of the anterior pituitary under the control of the hypothalamic gonadotropin releasing hormone (GnRH). LH consists of two polypeptide chains, alpha and beta. The alpha chains of LH, FSH, TSH and HCG are biochemically identical, whereas the beta chains are biochemically unique, conferring bioactivity and biological and immunological specificity. In females, LH causes ovulation and steroid (estrogen and progesterone) production by the corpus luteum. Small quantities of LH are also necessary to promote estrogen production by the maturing follicle. In males, it stimulates interstitial (Leydig) cells to produce androgens and estrogens. Circulating levels of LH are controlled by a negative feedback effect on the hypothalamus by the steroid hormones. LH secretion, different for the two sexes and required for normal sexual function, occurs in pulses with rapid fluctuations over the entire reference range. Values for samples obtained in a single day from the same patient may therefore vary widely.

LH measurements are used to define the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. Serum gonadotropin determinations permit distinguishing between primary gonadal failure and deficient gonadal stimulation. If LH and FSH levels are elevated, primary gonadal failure is present, whereas if gonadotropin levels are low, deficient gonadal stimulation has resulted in the hypogonadal state. LH measurement is also clinically important because LH and growth hormone are frequently the first hormones to be affected by pituitary disease.

Serum LH determinations have been very useful in the diagnosis and treatment of infertility in women. A midcycle rise is a good indication that ovulation will occur approximately 24 hours later. Subfertile couples, and women being treated with gonadotropins for infertility, can be informed that ovulation is imminent.

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 LH is a solid-phase, two-site chemiluminescent immunometric assay.

Incubation Cycles: 1 × 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 LH has not been tested with all possible variations of tube types.

Volume Required: 75 µL serum

Storage: 2 weeks at 2–8°C, or 2 months at –20°C.[11]

Since LH is known to exhibit a small circadian rhythm, the time of collection should be noted.

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.

H412 **P273, P501**	Harmful to aquatic life with long lasting effects. Avoid release to the environment. Dispose of contents and container in accordance with all local, regional, and national regulations. **Contains:** sodium azide; LH Adjustors

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.

LH Bead Pack (L2LH12)
With barcode. 200 beads, coated with monoclonal murine anti-LH. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KLH2: 1 pack **L2KLH6:** 3 packs

LH Reagent Wedge (L2LHA2)
With barcode. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to polyclonal goat anti-LH in buffer. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KLH2: 1 wedge **L2KLH6:** 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.

LH Adjustors (LLHL, LLHH)
Two vials (Low and High) of lyophilized LH in a nonhuman serum matrix. Reconstitute each vial with **4.0 mL** distilled or deionized water. Stable at 2–8°C for 30 days after reconstitution, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KLH2: 1 set **L2KLH6:** 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; controls

Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual for preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval: 4 weeks

Quality Control Samples: Follow government regulations or accreditation requirements for quality control frequency.

Use controls or serum pools with at least two levels (low and high) of LH.

Siemens Healthcare Diagnostics recommends the use of commercially available quality control materials with at least 2 levels (low and high). A satisfactory level of performance is achieved when the analyte values obtained are within the Acceptable Control Range for the system, or within an established range determined

by an appropriate internal laboratory quality control scheme.

Expected Values

Based on its relationship to IMMULITE LH (see Method Comparison), the assay can be expected to have essentially the same reference ranges.

Reference ranges were generated using IMMULITE LH in a multi-national study involving women in apparent good health (age: 16–44 years), who volunteered to have blood samples drawn, on a daily basis, throughout one complete ovulatory cycle.

		LH, mIU/mL	
Ovulatory Cycles	*n**	Median	Central 95%
Follicular Phase	54 (762)	4.6	1.1 – 11.6
Midcycle	54 (54)	39	17 – 77
Luteal Phase	54 (658)	4.3	ND – 14.7
Perimenstrual, ± 8 days	54 (959)	3.9	ND – 12.0

*Number of subjects (total number of results)

		LH, mIU/mL	
Group	*n*	Median	Central 95%
Adult Males	135	2.4	0.8 – 7.6
Adult Females:			
Postmenopausal*	75	24.9	11.3 – 39.8
Oral Contraceptives	104	3.1	ND – 8.0

*Preliminary
ND: Not detectable

See Menstrual Cycle Graph (Tables and Graphs section).

A cross-sectional study of pediatric fertility values performed with IMMULITE LH at a "wellness" clinic in the southwestern United States yielded the following results.

			LH, mIU/mL	
Group	Age (yr)	*n*	Median	Central 95%
Females	Cord	31	ND	
	0.1 – 1.5	46	0.7	ND – 2.3
	1.6 – 9	38	ND	ND – 1.3
Males	Cord	36	ND	ND – 3.6
	0.1 – 1.5	54	1.0	ND – 4.1
	1.6 – 9	46	ND	ND – 3.8
Combined	Cord	67	ND	ND – 3.5
	0.1 – 1.5	100	0.7	ND – 3.7
	1.6 – 9	84	ND	ND – 3.2

ND: Not detectable

Pediatric: Reference intervals for the pediatric population (children and adolescents) were established for the IMMULITE LH assay in accordance with CLSI guideline EP28-A3C.[12] Samples were collected prospectively from apparently healthy pediatric subjects, using predefined inclusion criteria. Reference values were generated for subpopulations based on age and Tanner stage subgroups based on physiological development. The study was designed to establish reference values across genders, and to include approximately equal numbers of males and females within each age or Tanner stage subgroup. The subject's Tanner stage was assessed based on pubic hair and genitalia/breast development. The scale proposed by Neinstein and Kaufman was used for the determination of the Tanner stages.[13]

The reference intervals and Tanner values are based on the central 90% (5th and 95th percentiles). Where sample sizes were insufficient to calculate the 5th or 95th percentile, the minimum or maximum observed values are presented in the Reference Intervals tables.

IMMULITE 2000/2000 XPi LH Pediatric Reference Intervals

Gender	Age (Years)	*n*	Median	Range
			mIU/mL (IU/L)	
Male	2 – 3	10	0.1	< 0.1* – > 0.2†
	4 – 9	57	0.1	< 0.1 – 0.4
	10 – 12	89	0.7	< 0.1 – 2.8
	13 – 21	151	2.3	0.8 – 6.0
Female	2 – 3	17	0.1	< 0.1* – > 0.3
	4 – 9	46	< 0.1	< 0.1 – 0.4
	10 – 12	93	2.2	< 0.1 – 9.5
	13 – 21	127	4.0	1.0 – 39.3

*Value presented is the minimum reportable value observed; insufficient sample size to calculate a 5th percentile limit.

† Value presented is the maximum value observed; insufficient sample size to calculate a 95th percentile limit.

IMMULITE 2000/2000 XPi LH Pediatric Reference Intervals by Tanner Stage

Gender	Tanner Stage	*n*	Median	Range
			mIU/mL (IU/L)	
Male	1	73	0.1	< 0.1 – 0.8
	2	64	0.6	< 0.1 – 2.6
	3	63	1.7	0.4 – 4.4
	4	59	2.2	0.9 – 7.5
	5	48	3.3	1.0 – 6.4
Female	1	72	0.1	< 0.1 – 3.9
	2	47	1.4	< 0.1 – 9.5
	3	65	3.0	0.7 – 13.0
	4	47	4.2	0.8 – 29.9
	5	52	4.1	0.6 – 49.0

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

Limitations

Because of pulsatile secretion, samples obtained within the same day from the same patient may fluctuate widely within the reference range, reflecting physiological variation rather than errors in technique or methodology.

The assay's crossreactivity to HCG is low and will not have impact under normal circumstances. However, for samples with very high levels of HCG, such as pregnancy samples, samples from trophoblastic disease or testicular cancer patients, LH may be falsely elevated due to crossreactivity to HCG.

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 mIU/mL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Calibration Range: up to 200 mIU/mL (WHO 1st IRP 68/40 and 2nd IS 80/552)

Analytical Sensitivity: 0.05 mIU/mL

High-dose Hook Effect:
None up to 85,000 mIU/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 four LH solutions (200, 400, 1000 and 2000 mIU/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody is highly specific for LH. (See "Specificity" table.)

Bilirubin: Presence of bilirubin in concentrations up to 200 mg/L has no effect on results, within the precision of the assay.

Biotin: Specimens that contain biotin at a concentration of 1500 ng/mL demonstrate a less than or equal to 10% change in results. Biotin concentrations greater than this may lead to incorrect results for patient samples.

Hemolysis: Presence of hemoglobin in concentrations up to 188 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 3000 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Method Comparison: The assay was compared to IMMULITE LH on 105 samples. (Concentration range: approximately 1 to 140 mIU/mL.) By linear regression:

(IML 2000) = 1.04 (IML) – 0.25 mIU/mL
r = 0.972

Means:
26 mIU/mL (IMMULITE 2000)
26 mIU/mL (IMMULITE)

References

1) Beitens I, et al. Gonadotropin determinations in timed 3-hour urine collections during the menstrual cycle and lhrh testing. J Clin Endo Metab 1976;43:46-55. 2) Chipman J, et al. Interrelationship of plasma and urinary gonadotropins: correlations for 24 hours, for sleep/wake periods, and for 3 hours after luteinizing hormone-releasing hormone stimulation. Clin Endo Metab 1981;52:225-30. 3) Davidsohn I, Henry J, editors. Clinical diagnosis by laboratory methods. 15th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1974:704. 4) Kulin H, et al. Integration of pulsatile gonadotropin secretion by timed urinary measurements: an accurate and sensitive 3-hour test. J Clin Endo Metab 1975;40:783-9. 5) Kulin H, Santner S. Timed urinary gonadotropin measurements in normal infants, children, and adults, and in patients with disorders of sexual maturation. J Pediatrics 1977;90:760-5. 6) Nankin H, et al. Repetitive luteinizing hormone elevations in serum of normal men. J Clin Endo Metab 1972;33:558-60. 7) Odell W, et al. Radioimmunoassay for luteinizing hormone in human plasma or serum. J Clin Invest 1967;46:248. 8) Rebar R, Yen S. In: Dorothy Krieger, editor. Endocrine rhythms. New York: Raven Press, 1979. 9) Santner S, Santen R, Kulin H, Demers L. A model for validation of radioimmunoassay kit reagents: measurement of follitropin and lutropin in blood and urine. Clin Chem 1981;27:1892-5. 10) Urban M, et al. Comparison of estimates of gonadotropin levels by isolated blood samples, integrated blood concentrations, and timed urinary fractions. J Clin Endo Metab 1979;48:732-5. 11) Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz textbook of clinical chemistry. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994: 920 12) Clinical and Laboratory Standards Institute. *Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Third Edition.* Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010. CLSI Guideline EP28-A3C. 13) Neinstein LS and Kaufman FR, Chapter 1: Normal Physical Growth and Development in Neinstein L.S. *Adolescent Health Care: A Practical Guide*, 4th ed.

Technical Assistance

Contact your National Distributor.

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

Linearity (mIU/mL)

	Dilution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	8 in 8[5]	1.9	—	—
	4 in 8	0.81	0.95	85%
	2 in 8	0.62	0.48	88%
	1 in 8	0.18	0.24	75%
2	8 in 8	14	—	—
	4 in 8	6.8	7.0	97%
	2 in 8	3.3	3.5	94%
	1 in 8	1.5	1.8	83%
3	8 in 8	24	—	—
	4 in 8	12	12	100%
	2 in 8	6.3	6.0	105%
	1 in 8	2.9	3.0	97%
4	8 in 8	54	—	—
	4 in 8	26	27	96%
	2 in 8	14	14	100%
	1 in 8	6.7	6.8	99%
5	8 in 8	105	—	—
	4 in 8	55	53	104%
	2 in 8	28	26	108%
	1 in 8	12	13	92%
6	8 in 8	154	—	—
	4 in 8	77	77	100%
	2 in 8	37	39	95%
	1 in 8	19	19	100%

Precision (mIU/mL)

		Within-Run[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	0.15	0.02	13.1	0.036	23.9%
2	0.29	0.015	5.11	0.075	26.3%
3	1.04	0.032	3.04	0.069	6.6%
4	1.89	0.07	3.71	0.118	6.2%
5	8.7	0.31	3.6%	0.58	6.7%
6	20	0.68	3.4%	1.4	7.0%
7	28	1.1	3.9%	1.7	6.1%
8	96	3.7	3.9%	6.4	6.7%
9	170	6.0	3.5%	12	7.1%

Recovery (mIU/mL)

	Solution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	—	1.9	—	—
	A	13	12	108%
	B	23	22	105%
	C	55	52	106%
	D	108	102	106%
2	—	14	—	—
	A	23	23	100%
	B	34	33	103%
	C	69	63	110%
	D	128	113	113%
3	—	26	—	—
	A	37	35	106%
	B	51	45	113%
	C	84	75	112%
	D	144	125	115%
4	—	54	—	—
	A	62	61	102%
	B	79	71	111%
	C	105	101	104%
	D	166	151	110%
5	—	105	—	—
	A	108	110	98%
	B	128	120	107%
	C	157	150	105%
	D	220	200	110%

Specificity

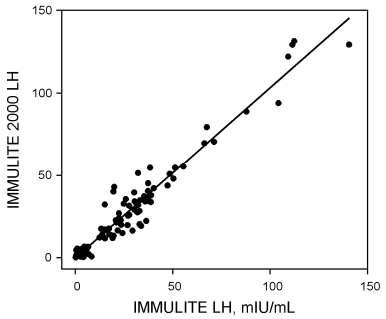
Compound[1]	Amount Added[2]	Apparent LH[3]	% Cross reactivity[4]
TSH	32 ng/mL (158 µIU/mL)	ND	ND
FSH	18 ng/mL (345 mIU/mL)	ND	ND
HCG	104 ng/mL (970 mIU/mL)	0.213 ng/mL (2.44 mIU/mL)*	0.20%

* The crossreactivity to multiple levels of HCG is shown below.[5]

Compound	mIU/mL Added	Apparent LH mIU/mL	% Cross reactivity[4]
	230	0.76	0.33%
HCG	970	2.44	0.25%
	2631	6.1	0.23%

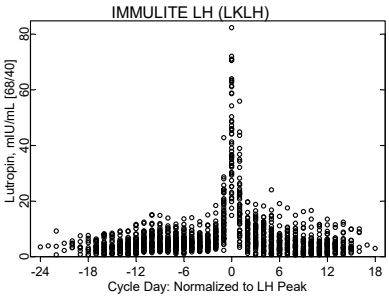
ND: Not detectable[6]

Method Comparison



(IML 2000) = 1.04 (IML) – 0.25 mIU/mL
r = 0.972

Menstrual Cycle Graph



Deutsch. **Precision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]SD (Standardbereich), [5]CV (Variationskoeffizient). **Linearity**: [1]Verdünnung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Lösung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E. **Specificity**: [1]Verbindung, [2]zugesetzte Menge, [3]gemessenes LH, [4]% Kreuzreaktivität, [5] Die Kreuzreaktivität bei verschiedenen HCG-Konzentrationen wurde in der folgenden Tabelle dargestellt, [6]NN: Nicht nachweisbar. **Menstrual Cycle Graph.** Cycle Day: Normalized to LH Peak: Zyklustag: bezogen auf LH-Peak

Español. **Precision**: [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV. **Linearity**: [1] Dilución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 en 8. **Recovery**: [1]Solución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Specificity**: [1]Compuesto, [2] Cantidad añadida, [3] LH aparente, [4]% Reacción cruzada, [5]La reactividad cruzada a múltiples niveles de HCG se muestran abajo [6]ND: no detectable. **Menstrual Cycle Graph.** Cycle Day: Normalized to LH Peak: Día del Ciclo: referido al pico de LH

Français. **Precision**: [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]SD, [5]CV. **Linearity**: [1]Dilution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A, [5]8 dans 8. **Recovery**: [1]Solution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A. **Specificity**: [1]Composé, [2]ajouté, [3]LH apparente, [4]Réaction croisée %, [5]La réaction croisée avec différentes concentrations d'hCG est présentée ci-dessous, [6]ND: non détectable.

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity**: [1]Diluizione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Soluzione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A. **Specificity**: [1]Composto, [2]quantità aggiunta, [3]LH apparente, [4]Percentuale di Crossreattività, [5]Di seguito è descritta la crossreattività verso livelli multipli di HCG, [6]ND: non determinabile. **Menstrual Cycle Graph.** Cycle Day: Normalized to LH Peak: Ciclo Giornaliero: Normalizzato/i al Picco di LH

Português. **Precisão** [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação. **Linearidade**: [1]Diluição, [2]Observado (O),esperado (E), [4]%O/E, [5]8 em 8. **Recuperação**: [1]Solução, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. Es**pecificidade**: [1]Composto, [2]Quantidade adicionada, [3]LH aparente, [4]Percentagem de reacção cruzada, [5]A reação cruzada para vários níveis de HCG é referida abaixo, [6]ND: não detectável. Gráfico de ciclo **Menstrual.** Ciclo diário: Normalizado para o pico de LH: Dia do Ciclo: Normalizado até ao Pico de LH.

Deutsch

LH

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme – zur quantitativen Messung von LH im Serum, als Hilfestellung in der klinischen Diagnose.

Artikelnummern: **L2KLH2** (200 Tests), **L2KLH6** (600 Tests)

Testcode: **LH** Farbe: **rot**

Klinische Relevanz

Luteinisierendes Hormon (Lutropin, LH) ist ein Glycoprotein mit einem Molekulargewicht von 28 000 Dalton. Es wird durch die B-Zellen der vorderen Hypophyse sezerniert. Die Kontrolle der Ausschüttung erfolgt durch das Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH) des Hypothalamus. LH besteht aus zwei Polypeptidketten, die Alpha- und die Beta-Kette. Die Alpha-Ketten von LH, FSH, TSH und HCG sind biochemisch identisch. Die jeweiligen Beta-Ketten sind hormonspezifisch und sind verantwortlich für die Bioaktivität sowie die biologische und immunologische Spezifität der Hormone. In Frauen verursacht das LH die Ovulation und die Produktion der Steroide Östrogen und Progesteron durch den Corpus luteum. Kleine Mengen an LH sind zusätzlich noch nötig um die Östrogenproduktion im heranreifenden Follikel zu fördern. Im Mann stimuliert das LH die Ledig-Zellen zur Produktion von Androgenen und Östrogenen. Die zirkulierenden LH-Spiegel unterliegen der Kontrolle durch einen, von Steroidhormonen gesteuerten, negativen Rückkopplungseffekt auf den Hypothalamus. Die LH-Ausschüttung, unterschiedlich in beiden Geschlechtern und notwendig zur normalen sexuellen Funktion, erfolgt pulsartig mit schnellen Fluktuationen über den gesamten Referenzwertbereich. Werte, die für mehrere am selben Tag entnommene Proben gewonnen wurden, können deshalb beträchtlich variieren.

LH-Messungen werden genutzt um die Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse zu definieren.

Gonadotropinbestimmungen aus dem Serum erlauben die Unterscheidung zwischen einer primären Gonadenstörung und einer unzulänglichen Stimulation der Gonaden. Erhöhte LH- und FSH-Konzentrationen verweisen auf einen primären Schaden der Gonaden, wohingegen bei niedrigen Gonadotropin-Konzentrationen eine unzureichende gondale Stimulation zum Hypogonadismus führt. LH-Messungen sind von großer klinischer Wichtigkeit, da LH und Wachstumshormone häufig die ersten Hormone sind, die von Erkrankungen der Hypophyse beeinflußt werden.

LH-Bestimmungen im Serum haben sich als sehr nützlich in der Diagnose und Therapie von Infertilität bei der Frau erwiesen. Ein Anstieg in der mittleren Zyklusphase läßt den Einsprung innerhalb der nächsten 24 Stunden erwarten. Subfertile Paare und Frauen, die mit Gonadotropinen gegen Infertilität behandelt werden, können somit über den bevorstehenden Eisprung informiert werden.

Methodik

Der IMMULITE 2000-LH ist ein Festphasen, Zwei-phasen Chemilumineszenz immunometrischer Assay.

Inkubationszyklen: 1 × 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 zurückhaltend zu interpretieren.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter 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 LH sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden.

Erforderliche Menge: 75 µl Serum

Lagerung: 2 Wochen bei 2–8°C oder 2 Monate bei –20°C (aliquotiert).[11]

Wegen möglicher tageszeitlichen Schwankungen empfiehlt es sich, die Blutproben immer zum selben Zeitpunkt zu entnehmen.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *in vitro*-Diagnostik.

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.

H412 **P273, P501**	Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Inhalt und Behälter sind in Übereinstimmung mit den gesetzlichen Bestimmungen zu entsorgen. **Enthält:** Natriumazid; LH Kalibratoren

Reagenzien: Bei 2–8°C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Bestimmten Komponenten wurde Natriumazid (< 0,1 g/dl) hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu verhindern, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

Chemilumineszenz-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.

LH Kugel-Container (L2LH12)
Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugel, beschichtet mit monoklonalem LH-Antikörper (Maus). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KLH2: 1 Container
L2KLH6: 3 Container

Reagenzbehälter LH (L2LHA2)
Mit Barcode. 11,5 ml alkalische Phosphatase (Kalb) konjugiert mit polyklonalem LH-Antikörper in einem Puffer (Ziege). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KLH2: 1 Behälter **L2KLH6:** 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.

LH Kalibratoren (LLHL, LLHH)
Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) mit lyophilisiertem LH in einer nichthumaner Serum-Matrix. Fläschchen mit je **4,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. Nach Rekonstituierung 30 Tage bei 2–8°C, sonst 6 Monate (aliquotiert) bei –20°C haltbar.
L2KLH2: 1 Set **L2KLH6:** 2 Sets

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Röhrchen kleben, so dass die Barcodes vom Barcode Reader des Systems gelesen werden können.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: (Wegwerf-) Reaktionsgefäße

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Röhrchen; Kontrollen

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Verdünnung, Kalibration, Test- und Qualitätskontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
4 Wochen

Qualitätskontrollproben: Jeweils gültige gesetzlichen Bestimmungen oder Akkreditierungsanforderungen sind bei der Festlegung der Intervalle zur Durchführung der Qualitätskontrollen zu berücksichtigen.

Kontrollen oder Poolseren mit LH in mindestens zwei Konzentrationen (niedrig und hoch) verwenden.

Siemens Healthcare Diagnostics empfiehlt die Verwendung von kommerziell verfügbaren Qualitätskontrollen in mindestens 2 Konzentrationen (niedrig und hoch). Der Systembetrieb gilt dann als zufriedenstellend, wenn die Analytwerte innerhalb des für das System zulässigen Kontrollbereichs oder des für die laborinternen Qualitätskontrollverfahren festgelegten zulässigen Bereichs liegen.

Referenzwerte

Basierend auf der Korrelation zum IMMULITE-LH (siehe Methodenvergleich), wurden folgende Referenzwerte ermittelt:

Die Referenzbereiche wurden in einer internationalen Multicenter-Studie mit dem IMMULITE-LH Assay bestimmt. Es wurden täglich während des gesamten Ovulationszykluses Proben von offensichtlich gesunden Frauen (Alter 16–44 Jahre) entnommen.

		LH, mIU/ml	
Ovulationszyklen	*n**	Median	95%-Bereich
Follikelphase	54 (762)	4,6	1,1 – 11,6
Mittelzyklus	54 (54)	39	17 – 77
Lutealphase	54 (658)	4,3	NN – 14,7
Perimenstruell, ± 8 Tage	54 (959)	3,9	NN – 12,0

*Anzahl der Versuchpersonen (Gesamtzahl der Ergebnisse)
NN: Nicht nachweisbar

		LH, mIU/ml	
Gruppe	*n*	Median	95%-Bereich
Männer	135	2,4	0,8 – 7,6
Frauen			
Postmenopause*	75	24,9	11,3 – 39,8
Orale Kontrazeptiva	104	3,1	NN – 8,0

*Vorläufig
NN: Nicht nachweisbar

Siehe "Menstrual Cycle Graph" (Graphik des Menstruationszykluses) in Siehe "Tables and Graphs" (Tabellen und graphischen).

Für eine altersabhängige Studie wurde in einer "Wellness"-Klinik im Südwesten der USA mit Hilfe des IMMULITE LH folgende Werte ermittelt.

			LH, mIU/ml	
Gruppe	Alter (Jahre)	*n*	Median	95%-Bereich
Frauen	Schnur	31	NN	
	0,1 – 1,5	46	0,7	NN – 2,3
	1,6 – 9	38	NN	NN – 1,3
Männer	Schnur	36	NN	NN – 3,6
	0,1 – 1,5	54	1,0	NN – 4,1
	1,6 – 9	46	NN	NN – 3,8
Kombiniert	Schnur	67	NN	NN – 3,5
	0,1 – 1,5	100	0,7	NN – 3,7
	1,6 – 9	84	NN	NN – 3,2

NN: Nicht nachweisbar

Kinder: Pädiatrische Referenzbereiche (Kinder und Jugendliche) wurden für den IMMULITE LH-Test in Übereinstimmung mit der CLSI-Richtlinie EP28-A3C festgelegt.[12] Dazu wurden Proben

prospektiv von offensichtlich gesunden pädiatrischen Probanden entnommen, die unter Anwendung vordefinierter Einschlusskriterien ausgewählt wurden. Referenzwerte für Unterpopulationen wurden basierend auf dem Alter und den Tanner-Stadium-Untergruppen ermittelt, die wiederum auf der physiologischen Entwicklung basierten. Die Studie diente der Ermittlung von Referenzwerten für beide Geschlechter, wobei ungefähr dieselbe Anzahl von weiblichen und männlichen Probanden jeden Alters bzw. aus jeder Tanner-Stadium-Untergruppe in die Studie eingeschlossen werden sollten. Das Tanner-Stadium der Probanden wurde anhand der Schambehaarung sowie des Entwicklungsstadiums der Genitalien bzw. der Brust beurteilt. Zur Bestimmung des Tanner-Stadiums wurde die von Neinstein und Kaufman vorgeschlagene Skala verwendet.[13]

Die Referenzbereiche und die Tanner-Werte basieren auf einem Mittelwert von 90 % (5. und 95. Perzentil). Bei Probenmengen, die für eine Berechnung des 5. und 95. Perzentils unzureichend waren, werden die beobachteten Mindest- und Höchstwerte entsprechend den Referenzbereichen in den Tabellen aufgeführt.

IMMULITE 2000/2000 XPi LH pädiatrische Referenzbereiche

Geschlecht	Alter (in Jahren)	*n*	Median	Bereich
			mIU/ml (IU/l)	
Männlich	2 – 3	10	0,1	< 0,1* – > 0,2†
	4 – 9	57	0,1	< 0,1 – 0,4
	10 – 12	89	0,7	< 0,1 – 2,8
	13 – 21	151	2,3	0,8 – 6,0
Weiblich	2 – 3	17	0,1	< 0,1* – > 0,3
	4 – 9	46	< 0,1	< 0,1 – 0,4
	10 – 12	93	2,2	< 0,1 – 9,5
	13 – 21	127	4,0	1,0 – 39,3

* Der angegebene Wert entspricht dem beobachteten messbaren Mindestwert; Probenmenge zur Berechnung des 5. Perzentils unzureichend.

† Der angegebene Wert entspricht dem beobachteten messbaren Höchstwert; Probenmenge zur Berechnung des 95. Perzentils unzureichend.

IMMULITE 2000/2000 XPi LH pädiatrische Referenzbereiche nach Tanner-Stadium

Geschlecht	Tanner-Stadium	*n*	Median	Bereich
			mIU/ml (IU/l)	
Männlich	1	73	0,1	< 0,1 – 0,8
	2	64	0,6	< 0,1 – 2,6
	3	63	1,7	0,4 – 4,4
	4	59	2,2	0,9 – 7,5
	5	48	3,3	1,0 – 6,4
Weiblich	1	72	0,1	< 0,1 – 3,9
	2	47	1,4	< 0,1 – 9,5
	3	65	3,0	0,7 – 13,0
	4	47	4,2	0,8 – 29,9
	5	52	4,1	0,6 – 49,0

Betrachten Sie diese Grenzwerte nur als *Richtlinien*. Jedes Labor sollte eigene Referenzbereiche ermitteln.

Grenzen der Methode

Wegen der pulsatiler Sekretion des LH können Proben, die am gleichen Tag vom gleichen Patienten kommen, weit innerhalb des Referenzbereiches schwanken. Dies entspricht der physiologischen Variabilität des LH.

Die Kreuzreaktivität des Assays zum HCG ist niedrig und hat daher unter normalen Bedingungen keine Auswirkungen. Wenn Proben mit sehr hohen HCG-Konzentrationen wie von schwangeren Frauen, Patienten mit trophoblastischen Erkrankungen oder Hodenkrebs untersucht werden, können die LH-Werte aufgrund der Kreuzreaktivität zu HCG falsch erhöht sein.

Heterophile Antikörper in Humanseren können mit Immunglobulinen aus den Assaykomponenten reagieren und Interferenzerscheinungen innerhalb des *in vitro* Immunoassays verursachen. (*Clin Chem* 1998:34:27-33) 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 mIU/ml ausgedrückt. (Alle Daten wurden — sofern nicht anders angegeben — aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Messbereich: Bis 200 mIU/ml
[WHO 1st IRP 68/40 und 2nd IS 80/552]

Analytische Sensitivität: 0,05 mIU/ml

High-Dose-Hook-Effect:
Bis 85 000 mIU/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 getestet, und zwar nachdem sie verschiedenerweise verdünnt wurden. (Siehe Tabelle ”Linearity”.)

Wiederfindung: Proben wurden mit vier Lösungen (200, 400, 1000 und 2000 mIU/ml) im Verhältnis von 1:19 versetzt. (Siehe Tabelle ”Recovery”.)

Spezifität: Der Assay ist hochspezifisch für LH. (Siehe Tabelle ”Specificity”.)

Bilirubin: Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Biotin: Proben, die Biotin in einer Konzentration von 1500 ng/ml enthalten, zeigen eine Veränderung der Ergebnisse von kleiner oder gleich 10 %. Größere Biotin-Konzentrationen als diese können zu falschen Ergebnissen bei Patientenproben führen.

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 188 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride haben in Konzentrationen bis zu 3000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Methodenvergleich: Der Assay wurde auf der Basis von 105 Patientenproben mit dem IMMULITE LH Assay verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 1 bis 140 mIU/ml. Siehe Grafik.)

Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 1,04 (IML) – 0,25 mIU/ml
r = 0,972

Mittelwert:
26 mIU/ml (IMMULITE 2000)
26 mIU/ml (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

LH

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro* usado con los analizadores IMMULITE 2000 — para la determinación cuantitativa de LH en suero, como una ayuda en el diagnóstico clínico.

Números de Catálogo:
L2KLH2 (200 tests), **L2KLH6** (600 tests)

Código del Test: **LH** Color: **Rojo**

Resumen y Explicación del Test

La hormona luteinizante (luteotropina, LH), una glicoproteina de 28 000 daltons, es secretada por las células B de la hipófisis anterior bajo el control de la hormona liberadora de gonadotropinas (Gn-RH) producida en el hipotálamo. La LH consiste en dos cadenas polipeptídicas, alfa y beta. Las cadenas alfa de LH, FSH, TSH and HCG son bioquímicamente idénticas, mientras que difieren en la composición bioquímica de las cadenas beta, lo que les confiere la bioactividad y especificidad biológica e inmunológica. En las mujeres, la LH

induce la ovulación y la producción de estroides (estrógenos y progesterona) en el cuerpo lúteo. También, son necesarias pequeñas cantidades de LH para inducir la producción de estrógenos en el folículo en maduración. En los hombres, estimula las células intersticiales de Leydig para producir andrógenos y estrógenos. Los niveles séricos de LH están controlados en el hipotálamo por un mecanismo de retroacción negativa de las hormonas esteroideas. La secrección de LH, diferente para los dos sexos, se necesita para una función sexual normal, y tiene lugar mediante pulsos con fluctuaciones rápidas. Los valores obtenidos en muestras de un paciente en el mismo día pueden diferir considerablemente.

La determinación de LH es usada para estudiar el eje hipotálamo-hipófisis-gónadal. Las determinaciones de gonadotropinas séricas permiten distinguir entre fallo gonadal primario y deficiencia en la estimulación gonadal. Si los niveles de LH y FSH están elevados, está presente un fallo gonadal primario, mientras que si los niveles de gonadotropinas son bajos,hay una deficiente estimulación gonadal. La determinación de LH también tiene su importancia clínica debido a que la LH y la hormona de crecimiento son, frecuentemente, las primeras hormonas en verse afectadas en caso de enfermedad hipofisiaria.

Las determinaciones de LH sérica han sido muy útiles en el diagnóstico y tratamiento de la infertilidad en las mujeres. Un pico a mitad del ciclo ovárico es una buena indicación de que la ovulación va a tener lugar en, aproximadamente, las 24 horas siguientes, lo que permite informar a las pacientes de que la ovulación es inminente.

Principio del análisis

IMMULITE 2000 LH es un ensayo inmunométrico con dos sitios de unión, quimioluminiscente en fase sólida.

Ciclos de incubación: 1 × 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 centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El LH IMMULITE 2000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos.

Volumen Requerido: 75 µl de suero

Conservación: 2 semanas a 2–8°C, o 2 meses a –20°C[11].

Debido a que se sabe que la LH está sometida a un pequeño ritmo circadiano, debería tenerse en cuenta la hora de la extracción de muestra.

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.

H412 **P273, P501**	Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. Evitar su liberación al medio ambiente. Eliminar el contenido y el recipiente de acuerdo con las normativas locales, regionales y nacionales. **Contiene:** azida de sodio; Ajustadores de LH

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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la formación de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las cañerias de cobre y plomo.

Sustrato quimioluminiscente: evite la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

Agua: Use 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 LH (L2LH12)
Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpo monoclonal murino anti-LH. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KLH2: 1 cartucho
L2KLH6: 3 cartuchos

Vial de reactivo de LH (L2LHA2)
Con códigos de barras. 11,5 ml de fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con anticuerpos policlonales de cabra anti-LH en solución tampón. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KLH2: 1 vial **L2KLH6:** 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 LH (LLHL, LLHH)
Dos viales (bajo y alto) de LH liofilizada en una matriz de suero no humano. Reconstituya cada vial con **4,0 ml** de agua destilada o desionizada. Estable a 2–8°C durante 30 días después de la reconstitución o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KLH2: 1 juego **L2KLH6:** 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: Substrato 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; controles

Ensayo

Aviso: para obtener un funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:
4 semanas

Muestras de Control de Calidad: Seguir las reglamentaciones gubernamentales o los requisitos de acreditación para conocer la frecuencia de control de calidad.

Utilizar controles o pooles de sueros con al menos dos niveles diferentes de LH (bajo y alto).

Siemens Healthcare Diagnostics recomienda el uso de materiales de control de calidad comercializados con al menos 2 niveles (bajo y alto). Un nivel de funcionamiento satisfactorio se consigue cuando los valores obtenidos del analito están dentro del rango de control aceptable para el sistema, o dentro del rango establecido determinado por un programa adecuado de control de calidad interno de laboratorio.

Valores Esperados

Basado en su relación con el IMMULITE LH (ver Comparación del Método), se puede esperar que el ensayo tenga esencialmente los mismos rangos de referencia.

Los valores de normalidad de la LH IMMULITE fueron obtenidos en un estudio multinacional, con mujeres voluntarias en aparente buen estado de salud, edades comprendidas entre 16 y 44 años y con tomas de sangre diarias hasta completar un ciclo ovulatorio completo.

		LH, mIU/ml	
Ciclos ovulatorios	*n**	Mediana	Central 95%
Fase folicular	54 (762)	4,6	1,1 – 11,6
Ciclo medio	54 (54)	39	17 – 77
Fase lútea	54 (658)	4,3	ND – 14,7
Perimenstrual, ± 8 días	54 (959)	3,9	ND – 12,0

*Número de individuos (número total de resultados)

		LH, mIU/ml	
Grupo	*n*	Mediana	Central 95%
Hombres	135	2,4	0,8 – 7,6
Mujeres			
Post menopaúsicas*	75	24,9	11,3 – 39,8
Anticonceptivos orales	104	3,1	ND – 8,0

*Preliminar
ND: No detectable

Ver "Menstrual Cycle Graph" (Curva del ciclo menstrual) en "Tables and Graphs" (Tablas y gráficos).

Un estudio sectorial sobre los valores normales de población pediátrica llevados a cabo con la LH IMMULITE en indiviuos aparentemente sanos en el suroeste de los Estados Unidos dió lugar a los siguientes resultados.

			LH, mIU/ml	
Grupo	Edad (años)	*n*	Mediana	Central 95%
Mujeres	Cordón	31	ND	
	0,1 – 1,5	46	0,7	ND – 2,3
	1,6 – 9	38	ND	ND – 1,3
Hombres	Cordón	36	ND	ND – 3,6
	0,1 – 1,5	54	1,0	ND – 4,1
	1,6 – 9	46	ND	ND – 3,8
Combinado	Cordón	67	ND	ND – 3,5
	0,1 – 1,5	100	0,7	ND – 3,7
	1,6 – 9	84	ND	ND – 3,2

ND: No detectable

Niños: Los intervalos de referencia de la población pediátrica (niños y adolescentes) para el ensayo IMMULITE LH se establecieron de acuerdo con el documento EP28-A3C[12] del CLSI. Las muestras se obtuvieron de manera prospectiva a partir de sujetos pediátricos aparentemente sanos siguiendo criterios de inclusión predefinidos. Se generaron valores de referencia para subpoblaciones basadas en subgrupos clasificados por edad y etapa de Tanner en función del desarrollo fisiológico. El estudio se ha diseñado para establecer valores de referencia para ambos géneros, e incluir un número aproximadamente equivalente de varones y hembras dentro de cada subgrupo de edad o etapa de Tanner. La etapa de Tanner de cada sujeto se evaluó en función del vello púbico y el desarrollo de los genitales/las mamas. La escala, propuesta por Neinstein y Kaufman, se usó para determinar las etapas de Tanner[13].

Los intervalos de referencia y los valores de Tanner se basan en el 90% central (percentiles 5 y 95). Si las muestras no tienen un tamaño suficiente para calcular el percentil 5 o 95, se presentan los valores mínimos o máximos observados en las tablas Intervalos de referencia.

Intervalos de referencia de IMMULITE 2000/2000 XPi LH para la población pediátrica

Sexo	Edad (años)	*n*	Mediana	Rango
			mIU/ml (IU/l)	
Varones	2 – 3	10	0,1	< 0,1* – > 0,2†
	4 – 9	57	0,1	< 0,1 – 0,4
	10 – 12	89	0,7	< 0,1 – 2,8
	13 – 21	151	2,3	0,8 – 6,0
Hembras	2 – 3	17	0,1	< 0,1* – > 0,3
	4 – 9	46	< 0,1	< 0,1 – 0,4
	10 – 12	93	2,2	< 0,1 – 9,5
	13 – 21	127	4,0	1,0 – 39,3

* El valor presentado es el valor mínimo reportable observado; tamaño de muestra insuficiente para calcular un límite de percentil 5.

† El valor presentado es el valor máximo observado; tamaño de muestra insuficiente para calcular un límite de percentil 95.

Intervalos de referencia de IMMULITE 2000/2000 XPi LH para la población pediátrica por etapa de Tanner

Sexo	Etapa de Tanner	*n*	Mediana	Rango
			mIU/ml (IU/l)	
Varones	1	73	0,1	< 0,1 – 0,8
	2	64	0,6	< 0,1 – 2,6
	3	63	1,7	0,4 – 4,4
	4	59	2,2	0,9 – 7,5
	5	48	3,3	1,0 – 6,4
Hembras	1	72	0,1	< 0,1 – 3,9
	2	47	1,4	< 0,1 – 9,5
	3	65	3,0	0,7 – 13,0
	4	47	4,2	0,8 – 29,9
	5	52	4,1	0,6 – 49,0

Estos límites han de considerarse sólo como una *guía*. Cada Laboratorio deberá establecer sus propios rangos de referencia.

Limitaciones

Debido a la secreción pulsátil, las muestras obtenidas el mismo día del mismo paciente pueden fluctuar ampliamente dentro del rango de referencia, reflejando una variación fisiológica más que errores en la técnica o la metodología.

La reacción cruzada para el ensayo de HCG es baja y sin efectos significativos en circunstancias normales. De todas formas, cuando son procesadas muestras con niveles muy altos para HCG procedentes de embarazadas, pacientes con enfermedades trofoblásticas o cáncer testicular, pueden aparecer niveles falsamente elevados para LH debido a la reacción cruzada con HCG.

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* 1998:34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasione un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia, no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros `conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

Características Analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo ver las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en mIU/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.)

Rango de Calibración: hasta 200 mIU/ml. Estandarizado en términos de la WHO 1° IRP 68/40 y del 2° IS 80/552.

Sensibilidad: 0,05 mIU/ml

Efecto de gancho a altas dosis: Ninguno hasta 85 000 mIU/ml

Precisión: Las muestras fueron analizadas por duplicado durante 20 días, en dos tandas de trabajo por día, para un total de 40 tandas y 80 replicados. (Ver la tabla de “Precision”.)

Linealidad: Las muestras fueron analizadas en varias diluciones. (Ver la tabla de “Linearity” para resultados representativos.)

Recuperación: Se analizaron muestras sobrecargadas 1 en 19 con cuatro soluciones (200, 400, 1000 y 2000 mIU/ml). (Ver la tabla de “Recovery” para resultados representativos.)

Especificidad: El ensayo es altamente específico para LH. (Ver la tabla de “Specificity”.)

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Biotina: Las muestras que contienen biotina en una concentración de 1500 ng/ml han demostrado un cambio igual o inferior al 10% en los resultados. Una concentración de biotina superior a esta puede producir resultados incorrectos para las muestras del paciente.

Hemolisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 188 mg/dl,no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Lipemia: La presencia de triglicéridos, en concentraciones hasta 3000 mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Comparación del Método: El ensayo fue comparado con el IMMULITE LH en 105 muestras de pacientes. (Rango de Concentración: aproximadamente 1 a 140 mIU/ml. Ver el gráfico.) Por regresión linear:

(IML 2000) = 1,04 (IML) – 0,25 mIU/ml
r = 0,972

Medias:
26 mIU/ml (IMMULITE 2000)
26 mIU/ml (IMMULITE)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

IMMULITE 2000 LH

Domaine d'utilisation : Pour le dosage quantitatif de LH dans le sérum. Ce test est réservé à un usage diagnostic *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000 et constitue une aide au diagnostic clinique.

Référence catalogue :
L2KLH2 (200 tests), **L2KLH6** (600 tests)

Code produit : **LH** Code couleur : **rouge**

Introduction

L'hormone lutéotrope (LH), glycoprotéine de poids moléculaire de 28 000 D, est sécrétée par les cellules β de l'antéhypophyse sous le contrôle de la gonadotrophine releasing hormone (GnRH) produite par l'hypothalamus. LH est constituée de deux chaînes polypeptidiques : α et β. Les chaînes α de la FSH, LH, TSH et HCG sont biochimiquement identiques, alors que les chaînes β sont biochimiquement différentes, leur conférant la spécificité immunologique et leur rôle biologique. Chez la femme, la LH est à l'origine de l'ovulation et de la sécrétion d'hormones stéroïdiennes telles que la progestérone et les œstrogènes par le corps jaune. De faibles quantités de LH sont également nécessaires à la production d'œstrogènes par le follicule en phase de maturation. Chez l'homme, la LH en stimulant les cellules interstitielles de Leydig est à l'origine de la sécrétion d'androgènes et d'œstrogènes par ces cellules. Les taux de LH circulantes sont régulés par un récontrôle négatif déclenché par les hormones stéroïdiennes qui agissent sur l'hypothalamus. La LH est sécrétée chez l'homme ou chez la femme de façon pulsatile avec des fluctuations rapides sur toute l'étendue du domaine de normalité. Par conséquent, les concentrations trouvées le même jour chez le même patient peuvent varier de façon considérable.

Le dosage de la LH a pour intérêt clinique l'exploration de l'axe hypothalamo-hypophysaire gonadique. Le dosage des gonadotrophines sériques permet de

différencier une insuffisance gonadique primaire et une déficience de stimulation gonadique. Si les taux de LH et FSH sont élevés, il s'agit d'une insuffisance gonadique primaire. Par contre, si les taux de LH et FSH sont bas, on est en présence d'une déficience de stimulation gonadique. Le dosage de la LH a également une importance clinique dans le cas de maladies hypophysaires où la LH et l'hormone de croissance sont les premières à être touchées.

Le dosage de la LH sérique est aussi très utile dans le diagnostic et le traitement de la stérilité féminine. En effet, une augmentation de LH en milieu de cycle est un bon indicateur d'ovulation qui aura lieu au plus tard dans les 24 heures. Ainsi, les femmes stériles traitées par des gonadotrophines sauront à quel moment aura lieu leur ovulation grâce au dosage de la LH.

Principe du test

IMMULITE 2000 LH est un dosage chimiluminescent immunométrique, en double site, en phase solide.

Cycles d'incubation : 1 × 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 dûs 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 LH IMMULITE 2000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles.

Volume nécessaire : 75 µl de sérum

Conservation : 2 semaines à 2–8°C ou 2 mois à –20°C.[11]

Comme la LH suit un léger rythme circadien, l'heure du prélèvement doit être notée.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

ATTENTION : Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.

H412 **P273, P501**	Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. Éviter le rejet dans l'environnement. Éliminer les contenus et les contenants conformément à toutes les réglementations locales, régionales et nationales. **Contient :** azide de sodium ; Ajusteurs LH

Réactifs : conserver les réactifs à 2–8°C. Eliminer les déchets conformément à la réglementation en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-HCV et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

Substrat chimiluminescent : éviter les contaminations et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

Eau : utiliser uniquement de l'eau distillée ou désionisée.

Matériel fourni

Les composants de la trousse ne peuvent être utilisés que conjointement. Les étiquettes à l'intérieur du coffret sont nécessaires au dosage.

Cartouche de billes LH (L2LH12)
Avec code-barres. 200 billes revêtues d'un anticorps monoclonal murin anti-LH. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KLH2 : 1 cartouche
L2KLH6 : 3 cartouches

Cartouche à réactif LH (L2LHA2)
Avec code-barres. 11,5 ml d'un réactif composé d'anticorps polyclonal de chèvre anti-LH marqué à la phosphatase alcaline (intestins de veau) dans un tampon. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KLH2 : 1 cartouche
L2KLH6 : 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 LH (LLHL, LLHH)
2 flacons d'ajusteurs (« haut » et « bas ») lyophilisés contenant de la LH dans une matrice de sérum non-humain. Reconstituer chaque flacon avec **4,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après reconstitution, ou 6 mois (aliquotés) à –20°C.
L2KLH2 : 1 jeu **L2KLH6 :** 2 jeux

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes 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 ; contrôles

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000.

Voir le Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000 pour la préparation, le démarrage du système, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé : 4 semaines

Contrôles contrôle de qualité : Suivre les réglementations gouvernementales et les exigences relatives aux accréditations en matière de fréquence de contrôle qualité.

Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) de LH.

Siemens Healthcare Diagnostics recommande d'utiliser des échantillons de contrôle de qualité en vente dans le commerce et comprenant au moins 2 niveaux (bas et haut). Un niveau de performance satisfaisant est atteint lorsque les valeurs d'analyte obtenues se situent dans l'intervalle de contrôle acceptable du système ou dans un intervalle déterminé par un schéma de contrôle de qualité approprié interne au laboratoire.

Valeurs attendues

Compte tenu de sa relation avec le dosage IMMULITE LH (Voir méthode de comparaison), le test doit avoir les mêmes valeurs attendues.

Les valeurs de référence ont été déterminées en utilisant le test IMMULITE LH dans une étude internationale incluant des femmes apparemment en bonne santé (âge : 16–44 ans), volontaires pour un prélèvement de sang quotidien pendant un cycle ovulatoire complet.

		LH, mUI/ml	
Cycles ovulatoires	*n**	Médiane	Centré 95%
Phase folliculaire	54 (762)	4,6	1,1 – 11,6
Milieu de cycle	54 (54)	39	17 – 77
Phase lutéale	54 (658)	4,3	ND – 14,7
Péri-menstruelle, ± 8 jours	54 (959)	3,9	ND – 12,0

*Nombre de sujets (total de résultats)

		LH, mUI/ml	
Groupe	*n*	Médiane	Centré 95%
Hommes	135	2,4	0,8 – 7,6
Femmes			
postménopausées*	75	24,9	11,3 – 39,8
Sous contraception orale	104	3,1	ND – 8,0

*Préliminaires
ND: non détectable

Voir le graphique "Menstrual Cycle" dans "Tables and Graphs".

Une étude en pédiatrie sur les valeurs de fertilité, realisée avec le test IMMULITE LH dans une clinique du sud ouest des Etats-Unis, a donné les résultats suivants.

			LH, mUI/ml	
Groupe	Âge (année)	*n*	Médiane	Centré 95%
Filles	Cordon	31	ND	
	0,1 – 1,5	46	0,7	ND – 2,3
	1,6 – 9	38	ND	ND – 1,3
Garçons	Cordon	36	ND	ND – 3,6
	0,1 – 1,5	54	1,0	ND – 4,1
	1,6 – 9	46	ND	ND – 3,8
Total	Cordon	67	ND	ND – 3,5
	0,1 – 1,5	100	0,7	ND – 3,7
	1,6 – 9	84	ND	ND – 3,2

ND: non détectable

Pédiatrique : Des intervalles de référence spécifiques au domaine pédiatrique (enfants et adolescents) ont été définis pour le dosage IMMULITE LH conformément à la directive EP28-A3C du CLSI.[12] Des échantillons ont préalablement été prélevés sur des sujets pédiatriques apparemment en bonne santé, en utilisant des critères d'inclusion prédéfinis. Des valeurs de référence ont été obtenues pour les sous-populations en fonction de l'âge et des sous-groupes correspondant aux différents stades de développement physiologique tels que définis par Tanner. L'étude a été conçue en vue de définir des valeurs de référence pour les deux sexes et d'inclure approximativement autant de garçons que de filles au sein de chaque tranche d'âge ou chaque sous-groupe correspondant à un stade de Tanner. Le classement du patient sur l'échelle de Tanner se fait en fonction du stade de développement des organes génitaux/des seins et des poils pubiens. L'échelle proposée par Neinstein et Kaufman a été utilisée pour déterminer les stades de Tanner.[13]

Les intervalles de référence et les valeurs de Tanner reposent sur l'intervalle de confiance à 90% (5e et 95e percentiles). Lorsque la taille des échantillons est insuffisante pour pouvoir calculer le 5e ou le 95e percentile, les valeurs minimales ou maximales observées sont indiquées dans les tableaux d'intervalles de référence.

Intervalles de référence pédiatriques IMMULITE 2000/2000 XPi LH

			Médiane	Intervalle
Sexe	Âge (ans)	*n*	mUI/ml (UI/l)	
Hommes	2 – 3	10	0,1	< 0,1* – > 0,2†
	4 – 9	57	0,1	< 0,1 – 0,4
	10 – 12	89	0,7	< 0,1 – 2,8
	13 – 21	151	2,3	0,8 – 6,0
Femmes	2 – 3	17	0,1	< 0,1* – > 0,3
	4 – 9	46	< 0,1	< 0,1 – 0,4
	10 – 12	93	2,2	< 0,1 – 9,5
	13 – 21	127	4,0	1,0 – 39,3

*La valeur indiquée est la valeur mesurable minimale observée ; échantillon de taille insuffisante pour calculer le 5e percentile.

† La valeur indiquée est la valeur maximale observée ; échantillon de taille insuffisante pour calculer le 95e percentile.

Intervalles de référence pédiatriques IMMULITE 2000/2000 XPi LH par stade de Tanner

Sexe	Stade de Tanner	*n*	Médiane	Intervalle
			mUI/ml (UI/l)	
Hommes	1	73	0,1	< 0,1 – 0,8
	2	64	0,6	< 0,1 – 2,6
	3	63	1,7	0,4 – 4,4
	4	59	2,2	0,9 – 7,5
	5	48	3,3	1,0 – 6,4
Femmes	1	72	0,1	< 0,1 – 3,9
	2	47	1,4	< 0,1 – 9,5
	3	65	3,0	0,7 – 13,0
	4	47	4,2	0,8 – 29,9
	5	52	4,1	0,6 – 49,0

Utiliser ces valeurs *à titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

Limites

En raison de la sécrétion pulsatile, des échantillons prélevés le même jour sur le même patient peuvent avoir des valeurs de référence extrêmement variées indicatrices de changements physiologiques plutôt que d'erreurs dans la technique ou méthodologie.

Le test montre une faible réaction croisée avec l'hCG qui n'aura pas d'impact dans ces circonstances normales. Néanmoins, lors du dosage d'échantillons ayant un taux très élevé d'hCG, tels que ceux provenant de femmes enceintes ou de patients atteints de maladie trophoblastique ou de cancer des testicules, les résultats de LH peuvent être faussement élevés à cause de la réaction croisée avec hCG.

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* 1998:34:27-33.] 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 de ce test. Les résultats sont donnés en mUI/ml. (En l'absence d'indication contraire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques recueillis en tubes, sans gel ni activateur de la coagulation.)

Intervalle de linéarité : jusqu'à 200 mUI/ml. Conforme aux normes de la 1ère IRP 68/40 et de la 2ème IS 80/552 de l'O.M.S.

Sensibilité analytique : 0,05 mUI/ml

Accoutumance aux doses élevées : aucune jusqu'à 85 000 mUI/ml

Précision : les valeurs ont été établies à partir de doublets dosés dans deux séries différentes chaque jour pendant 20 jours soit au total 40 séries et 80 résultats. (Voir le tableau « Precision ».)

Linéarité : les échantillons ont été testés avec des taux de dilution variés. (Voir le tableau « Linearity ».)

Récupération : les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec quatre solutions (200, 400, 1000 et 2000 mUI/ml). (Voir le tableau « Recovery ».)

Spécificité : le test est hautement spécifique de la LH. (Voir tableau « Specificity ».)

Bilirubine : La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

Biotine : Les échantillons contenant de la biotine à une concentration de 1500 ng/ml présentent un changement de résultats inférieur ou égal à 10 %. Des concentrations de biotine supérieures à cette valeur peuvent entraîner des résultats d'échantillons patients erronés.

Hémolyse : La présence d'hémoglobine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 188 mg/dl.

Lipémie : La présence de triglycérides ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 3000 mg/dl.

Comparaison de méthodes : le test a été comparé au test IMMULITE LH sur 105 échantillons de patients (dont les concentrations allaient d'environ 1 à 140 mUI/ml. Voir graphique.) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 1,04 (IML) – 0,25 mUI/ml
r = 0,972

Moyennes :
26 mUI/ml (IMMULITE 2000)
26 mUI/ml (IMMULITE)

Assistance technique

Contactez votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

Le Système Qualité de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. est certifié ISO 13485.

Italiano

LH

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa della LH nel siero, quale ausilio nella diagnosi clinica.

Codice: **L2KLH2** (200 test), **L2KLH6** (600 test)

Codice del Test: **LH** Colore: **Rosso**

Riassunto e Spiegazione del Test

L'ormone luteinizzante (lutropina, LH), una glicoproteina di 28 000 dalton, viene secreta dalle cellule β dell'ipofisi anteriore sotto il controllo della gonadotropina prodotta dall'ipotalamo (GnRH). L'LH è formato da due catene di polipeptidi alfa e beta. Le catene alfa dell'LH, FSH, TSH e HCG sono biochimicamente identiche, mentre le catene beta sono biochimicamente uniche, conferendo in questo modo bioattività e specificità biologica ed immunologica. Nelle donne, l'LH provoca l'ovulazione e la produzione di steroidi (estrogeni e progesterone) da parte del corpo luteo. Piccole quantità di LH sono anche necessarie per promuovere la produzione di estrogeni dal follicolo in maturazione. Nell'uomo, stimola le cellule interstiziali (Leydig) a produrre androgeni ed estrogeni. I livelli circolanti di LH sono controllati da un effetto di feedback negativo sull'ipotalamo da parte degli ormoni steroidei. La secrezione di LH, differente per i due sessi e richiesta dalla normale funzionalità sessuale, avviene ad impulsi con rapide fluttuazioni sull'intero range di riferimento. Valori per campioni ottenuti in un singolo giorno dallo stesso paziente possono quindi variare in modo significativo.

Le misurazioni di LH vengono utilizzate per definire l'asse ipotalamico-ipofisario-gonadico. Le determinazioni di gonadotropina nel siero permettono di distinguere tra anomalie gonadiche primarie e stimolazione gonadica insufficiente. Se i livelli di LH ed FSH sono elevati, è presente un'anomalia gonadica primaria, mentre se i livelli di gonadotropina sono bassi, la stimolazione gonadica insufficiente ha comportato un ipogonadismo. La misurazione dell'LH è anche clinicamente importante poiché l'LH e l'ormone della crescita sono di frequente i primi ormoni ad essere interessati da anomalie dell'ipofisi.

Le determinazioni dell'LH nel siero si sono rivelate particolarmente utili nella diagnosi e nel trattamento dell'infertilità femminile. Un innalzamento dei livelli a metà ciclo indica che l'ovulazione si verificherà circa 24 ore dopo. Coppie con problemi di infertilità e donne trattate con gonadotropine per problemi di infertilità possono essere informate dell'imminente ovulazione.

Principio del Dosaggio

Il dosaggio IMMULITE 2000 LH è un dosaggio immunometrico in chemiluminescenza in fase solida a doppio sito.

Cicli d'incubazione: 1 × 30 minuti

Prelievo dei Campioni

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

I campioni emolizzati posson 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 LH non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette.

Volume richiesto: 75 µL di siero

Conservazione: 2 settimane a 2–8°C o 2 mesi a –20°C.[11]

Poichè l'LH presenta un piccolo ritmo circadiano, occorre annotare il momento del prelievo.

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale portatore e trasmettitore di agenti patogeni.

H412 **P273, P501**	Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. Non disperdere nell'ambiente. Smaltire il prodotto e il contenitore in conformità con tutte le disposizioni locali, regionali e nazionali. **Contiene:** sodio azide; Calibratori LH

Reagenti: Conservare a 2–8°C. Scartare in conformità alle leggi applicabili.

Seguire le precauzioni universali, e maneggiare tutti i componenti come se fossero capaci di trasmettere agenti infettivi. Sono stati analizzati i materiali di sorgente dal sangue umano e sono stati trovati non reattivi per sifilide; per anticorpi ad HIV 1 e 2; per l'antigeno superficiale dell'epatite B; e per anticorpi all'epatite C.

E' stata aggiunta Sodio Azide a concentrazioni inferiori a 0,1 g/dL come conservante. Al momento dell'eliminazione, irrorare con molta acqua per evitare la formazione di azidi metalliche potenzialmente esplosive nelle tubature di piombo e di rame.

Sottostrato chemiluminescente: Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce del sole diretta. (Vedere l'inserimento.)

Acqua: Utilizzare 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 LH (L2LH12)
Con codice a barre. 200 biglie coattate con un anticorpo monoclonale di ratto anti-LH. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KLH2: 1 Confezione
L2KLH6: 3 Confezioni

Porta Reagente LH (L2LHA2)
Con codice a barre. 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con un anticorpo policlonale di capra anti-LH in soluzione tampone. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KLH2: 1 Porta Reagente
L2KLH6: 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.

Calibratori LH (LLHL, LLHH)
Due fiale (bassa ed alta) del LH liofilizzato in una matrice di siero non umano. Ricostituire ogni fiala con **4,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo la riscostituzione, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KLH2: 1 set **L2KLH6:** 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 di vetro; controlli

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato:
4 settimane

Campioni per il Controllo di Qualità:
Per la frequenza del controllo di qualità seguire le normative in vigore o i requisiti di accreditamento.

Usare i controlli o campioni di siero con almento due livelli (basso ed alto) del LH.

Siemens Healthcare Diagnostics consiglia l'utilizzo di materiali di controllo della qualità disponibili in commercio con almeno 2 livelli (bassi e alti). Un livello soddisfacente di prestazioni si raggiunge quando i valori dell'analita ottenuti rientrano nei range di accettabilità del Controllo per il sistema o nei range stabiliti all'interno del laboratorio attraverso un programma appropriato di valutazione del controllo di qualità.

Valori Attesi

Data l'affinità con l'LH IMMULITE (vedi "Confronto di Metodi") ci si attende che il dosaggio abbia gli stessi range di riferimento espressi in mIU/mL.

I range di riferimento sono stati generati utilizzando il kit LH IMMULITE all'interno di uno studio multi-nazionale che ha coinvolto donne in apparente stato di buona salute (età: 16–44 anni), che volontariamente hanno collaborato sottoponendosi ad un prelievo giornaliero di sangue per un ciclo ovulatorio completo.

LH, mIU/mL

Cicli Ovulatori	*n**	Mediana	Centrale 95%
Fase follicolare	54 (762)	4,6	1,1 – 11,6
Ciclo centrale	54 (54)	39	17 – 77
Fase luteinica	54 (658)	4,3	ND – 14,7
Perimestruale, ± 8 giorni	54 (959)	3,9	ND – 12,0

*Numero di pazienti (numero totale di risultati)

LH, mIU/mL

Gruppo	*n*	Mediana	Centrale 95%
Uomini	135	2,4	0,8 – 7,6
Donne			
post menopausale*	75	24,9	11,3 – 39,8
Contraccettivi orali	104	3,1	ND – 8,0

*Preliminare
ND: non determinable

Vedi "Menstrual Cycle Graph" (Diagramma del Ciclo Mestruale) in "Tables and Graphs" (tavole e grafici).

Uno studio inter-disciplinare su valori di fertilità pediatrica effettuato con il kit LH IMMULITE presso una Clinica nel Sud-Ovest degli Stati Uniti ha prodotto i seguenti risultati.

LH, mIU/mL

Gruppo	Età (anni)	*n*	Mediana	Centrale 95%
Donne	Cordone	31	ND	
	0,1 – 1,5	46	0,7	ND – 2,3
	1,6 – 9	38	ND	ND – 1,3
Uomini	Cordone	36	ND	ND – 3,6
	0,1 – 1,5	54	1,0	ND – 4,1
	1,6 – 9	46	ND	ND – 3,8
Combinato	Cordone	67	ND	ND – 3,5
	0,1 – 1,5	100	0,7	ND – 3,7
	1,6 – 9	84	ND	ND – 3,2

ND: non determinable

Popolazione pediatrica: Sono stati stabiliti gli intervalli di riferimento per la popolazione pediatrica (bambini e adolescenti) per il dosaggio LH IMMULITE in conformità alle linee guida CLSI EP28-A3C.[12] I campioni sono stati raccolti in modo prospettico da soggetti pediatrici apparentemente sani, utilizzando criteri di inclusione predefiniti. I valori di riferimento per le sottopopolazioni sono stati generati sulla base di sottogruppi suddivisi per età e stadio di Tanner sulla base dello sviluppo fisiologico. Lo studio è stato sviluppato per determinare i valori di riferimento tra la popolazione maschile e femminile, al fine di includere un numero approssimativamente simile di maschi e femmine all'interno di ciascun sottogruppo per età o stadio di Tanner. Lo stadio di Tanner del soggetto è stato valutato sulla base della peluria pubica e dello sviluppo dei genitali/del seno. È stata utilizzata la scala proposta da Neinstein e Kaufman per determinare gli stadi di Tanner.[13]

Gli intervalli di riferimento e i valori relativi allo stadio di Tanner si basano sul 90% centrale (5° e 95° percentile). Laddove il numero di campioni non è stato sufficiente per poter effettuare il calcolo del 5° o 95° percentile, vengono indicati i valori massimo e minimo osservati nelle tabelle degli Intervalli di riferimento.

Intervalli di riferimento pediatrici di LH IMMULITE 2000/2000 XPi

Genere	Età (anni)	*n*	Mediana	Intervallo
			mIU/mL (IU/L)	
Maschi	2 – 3	10	0,1	< 0,1* – > 0,2†
	4 – 9	57	0,1	< 0,1 – 0,4
	10 – 12	89	0,7	< 0,1 – 2,8
	13 – 21	151	2,3	0,8 – 6,0
Femmine	2 – 3	17	0,1	< 0,1* – > 0,3
	4 – 9	46	< 0,1	< 0,1 – 0,4
	10 – 12	93	2,2	< 0,1 – 9,5
	13 – 21	127	4,0	1,0 – 39,3

*È indicato il valore minimo refertabile osservato; numero di campioni insufficiente per il calcolo del limite del 5° percentile.

†È indicato il valore massimo refertabile osservato; numero di campioni insufficiente per il calcolo del limite del 95° percentile.

Intervalli di riferimento pediatrici di LH IMMULITE 2000/2000 XPi per stadio di Tanner

Genere	Stadio di Tanner	*n*	Mediana	Intervallo
			mIU/mL (IU/L)	
Maschi	1	73	0,1	< 0,1 – 0,8
	2	64	0,6	< 0,1 – 2,6
	3	63	1,7	0,4 – 4,4
	4	59	2,2	0,9 – 7,5
	5	48	3,3	1,0 – 6,4
Femmine	1	72	0,1	< 0,1 – 3,9
	2	47	1,4	< 0,1 – 9,5
	3	65	3,0	0,7 – 13,0
	4	47	4,2	0,8 – 29,9
	5	52	4,1	0,6 – 49,0

Detti valori dovrebbero essere considerati solo come *suggerimento*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

Limiti

A causa della secrezione intermittente, i campioni ottenuti nello stesso giorno dallo stesso paziente potrebbero presentare oscillazioni estese nell'ambito del range di riferimento, indicanti variazioni fisiologiche piuttosto che errori di procedimento o di metodologia.

La crossreattività dell'analysi all'hGC e' bassa e non avra' effetto in circostanze normali. Tuttavia quando sono esaminati campioni con livelli molto elevati di hCG, come ad esempio quelli di donne incinte o pazienti affetti da trofoblastica o da cancro testicolare, a causa della crossreattività all'hCG il livello dell'LH puo' essere falsamente elevato.

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* 1998:34: 27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di

interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedi tavole e grafici per dati *rappresentativi*. I risultati sono indicati in mIU/mL. (Laddove non diversamente specificato, tutti i dati sono stati generati su campioni di siero raccolti in provette senza gel separatore o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.)

Range di Calibrazione: fino a 200 mIU/mL. Standardizzata in termini di WHO primo IRP 68/40 e secondo IS 80/552.

Sensibilità Analitica: 0,05 mIU/mL

Effetto Gancio a Dosi Elevate: Nessun effetto fino a 85 000 mIU/mL

Precisione: Sono stati dosati campioni in doppio in 20 giorni, due sedute al giorno, per un totale di 40 sedute ed 80 replicati. (Vedi la Tabella "Precision".)

Linearità: Sono stati dosati campioni a varie diluizioni. (Vedi la Tabella "Linearity" per dati rappresentantivi.)

Recupero: Sono stati dosati campioni 1:19 ai quali sono state aggiunte quattro soluzioni (200, 400, 1000 e 2000 mIU/mL). (Vedi la Tabella "Recovery" per dati rappresentantivi.)

Specificità: Il dosaggio è estremamente specifico per l'LH. (Consultare la tabella "Specificity".)

Bilirubina: La presenza di bilirubina in concentrazioni fino a 200 mg/L non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Biotina: I campioni che contengono biotina a una concentrazione di 1500 ng/mL dimostrano una variazione nei risultati inferiore o pari al 10%. Le concentrazioni di biotina superiori a questo valore potrebbero portare a risultati non corretti dei campioni dei pazienti.

Emolisi: La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 188 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Lipemia: La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 3000 mg/dL non ha nessun Effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Paragone dei Metodi: Il dosaggio è stato comparato all'LH IMMULITE su 105 campioni di pazienti. (Range di concentrazione: da 1 fino a 140 mIU/mL. Vedi grafico.) Con regressione lineare:

(IML 2000) = 1,04 (IML) – 0,25 mIU/mL
r = 0,972

Valore medio:
26 mIU/mL (IMMULITE 2000)
26 mIU/mL (IMMULITE)

Assistenza Tecnica

Contattare il distributore nazionale.

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

LH

Utilização: Doseamento quantitativo do LH no soro, em conjunto com os Analisadores dos Sistemas IMMULITE 2000, para o diagnóstico clínico *in vitro*, como auxiliar no diagnóstico clínico

Números de catálogo:
L2KLH2 (200 testes)
L2KLH6 (600 testes)

Código do teste: **LH** Cor: **Vermelho**

Sumário e explicação do teste

A luteotrofina (LH-hormona luteinizante), glicoproteína com P.M. de 28 000 D, é segregada pelas células β da pituitária anterior, sob controlo da hormona hipotalâmica libertadora da gonadotropina (GnRH – hormona libertadora da gonadotrofina). A LH consiste em duas cadeias polipeptídicas, alfa e beta. As cadeias alfa das LH, FSH, TSH e HCG são idênticas, enquanto que as cadeias beta são diferentes para cada uma das

hormonas, conferindo-lhes especificidade funcional, biológica e imunológica. Nas mulheres, a LH induz a ovulação e a produção de esteróides (estrógenio e progesterona) pelo corpus luteum. São também necessárias pequenas quantidades de LH promotoras de produção de estrógeno pelo folículo maduro. Nos homens, estimula as células intersticiais (Leydig) a produzir andrógenos e estrógenos. Os valores da LH circulante são controlados por "feed-back" negativo, no hipotálamo, pelas hormonas esteróides. A secreção de LH, diferente para os dois sexos e indispensável para o funcionamento sexual normal, ocorre pulsátil com flutuações rápidas dentro dos níveis de referência. Os valores obtidos em diferentes amostras do mesmo paciente ao longo do dia poderão, portanto, variar largamente.

Os doseamentos de LH são usados para definir o eixo hipotalâmico – pituitário – gonadal. Detrminações serológicas das gonadotropinas permitem distinguir uma deficiência gonadal primária de uma deficiência na estimulação gonadal. Se os níveis de LH e FSH forem elevados, estamos perante uma deficiência gonadal primária, ao passo que, se os níveis das gonadotropinas estiverem baixos, a estimulação gonadal deficiente resultou num estado hipogonadal. O doseamento da LH tem também importância clínica no diagnóstico de disfunções na pituitária, uma vez que a LH e a hormona de crescimento (GH-growth hormone) são frequentemente as primeiras hormonas a serem afectadas.

Doseamentos serológicos da LH têm sido muito utéis para o diagnóstico e tratamento da infertilidade na mulher. Um pico de LH no meio do ciclo é um bom indicador de que a ovulação irá ocorrer aproximadamente 24h depois. Casais pouco férteis bem como mulheres sob terapia com gonadotropinas para a infertilidade podem ser devidamente informados que a ovulação está iminente.

Princípio do procedimento

A LH IMMULITE 2000 é um ensaio imunométrico em fase sólida quimioluminescente de duas voltas.

Ciclos de incubação: 1 × 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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 LH não foram ainda testados com todas as possiveis variações originadas pelos tipos de tubos.

Volume de amostra: 75 µL de soro

Estabilidade: 2 semanas a 2–8°C, ou 2 meses a –20°C[11].

Dado que o LH é conhecido por apresentar um pequeno ritmo circadiano o tempo de colheita deve ser anotado.

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.

H412 **P273, P501**	Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. Evitar a libertação para o ambiente. Eliminar o conteúdo e o recipiente em conformidade com todos os regulamentos locais, regionais e nacionais. **Contém:** azida de sódio; Ajustes de LH

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com normas aplicadas.

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.

A azida sódica foi adicionada como conservante a concentrações inferiores a 0,1 g/dL. Quando eliminar o produto, utilize água em abundância para evitar a acumulação de azidas metálicas potencialmente explosivas nas canalizações de chumbo e cobre.

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 LH (L2LH12)
Com código de barras. Contém 200 esferas revestidas com anticorpo monoclonal de rato anti-LH. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KLH2: 1 embalagem
L2KLH6: 3 embalagens

Embalagem de Reagente de LH (L2LHA2)
Com código de barras. Contém 11,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugado com anticorpo policlonal de cabra anti-LH em tampão. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KLH2: 1 embalagem
L2KLH6: 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 LH (LLHL, LLHH)
Dois fracos (nível alto e baixo) de LH liofilizada em matriz de soro de origem não humano. Reconstitua cada frasco com **4,0 mL** de água destilada ou deionizada. Estável a 2–8°C por 30 dias após reconstituição, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KLH2: 1 conjunto
L2KLH6: 2 conjuntos

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas de alíquota apropriadas (fornecidas com o "kit") em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente

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; controlos

Procedimento de doseamento

Ter em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000.

Consultar o Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000 relativamente aos procedimentos de preparação, diluição, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável: 4 semanas

Amostras de Controlo de Qualidade: Observe os regulamentos governamentais ou os requisitos de acreditação quanto à frequência do controlo de qualidade.

Utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de LH.

A Siemens Healthcare Diagnostics recomenda a utilização de materiais de controlo de qualidade comercialmente disponíveis com pelo menos 2 níveis

(baixo e alto). É alcançado um nível de desempenho satisfatório quando os valores dos analitos obtidos estiverem dentro dos Limites de Controlo Aceitáveis para o sistema ou dentro dos limites estabelecidos e determinados pelo regime de controlo de qualidade laboratorial interno adequado.

Valores de Referência

Baseado na sua relação com a LH IMMULITE (ver compara ção de métodos), pode esperar-se que o doseamento tenha valores de referência indênticos, em termos de mIU/mL.

Os seguintes valores de referência foram obtidos, utilizando o LH IMMULITE, através de um estudo multi-nacional, com mulheres saudáveis (16–44 anos de idade), as quais se voluntarizaram a uma análise sanguínea diária durante um ciclo ovulatório completo.

		LH, mIU/mL	
Ciclos Ovulatórios	*n**	Mediana	Central 95%
Fase folicular	54 (762)	4,6	1,1 – 11,6
Meio ciclo	54 (54)	39	17 – 77
Fase luteal	54 (658)	4,3	ND – 14,7
Perimestrual, ± 8 dias	54 (959)	3,9	ND – 12,0

*Número de indivíduos (número total de resultados)

		LH, mIU/mL	
Grupo	*n*	Mediano	Central 95%
Homens	135	2,4	0,8 – 7,6
Mulheres			
pósmenopausa*	75	24,9	11,3 – 39,8
Anticoncepcionais orais	104	3,1	ND – 8,0

*Preliminar
ND: não é detectável

Ver "Gráfico de ciclo menstrual" (em "Tabelas e gráficos").

Um estudo cruzado de valores de fertilidade pediátricos realizado com o LH IMMULITE numa clínica de "parto" no sudoeste dos E.U.A., forneceu os seguintes resultados.

			LH, mIU/mL	
Grupo	Idade (anos)	*n*	Mediano	Central 95%
Mulheres	Cordão	31	ND	
	0,1 – 1,5	46	0,7	ND – 2,3
	1,6 – 9	38	ND	ND – 1,3
Homens	Cordão	36	ND	ND – 3,6
	0,1 – 1,5	54	1,0	ND – 4,1
	1,6 – 9	46	ND	ND – 3,8
Combinado	Cordão	67	ND	ND – 3,5
	0,1 – 1,5	100	0,7	ND – 3,7
	1,6 – 9	84	ND	ND – 3,2

ND: não é detectável

Pediátrico: os intervalos de referência para a população pediátrica (crianças e adolescentes) foram estabelecidos para o ensaio LH IMMULITE em conformidade com a diretriz EP28-A3C[12] do CLSI. A colheita de amostras foi efetuada prospectivamente em indivíduos pediátricos aparentemente saudáveis utilizando critérios de inclusão predefinidos. Foram gerados valores de referência para subpopulações com base na idade e subgrupos de estádios Tanner com base no desenvolvimento fisiológico. O estudo foi concebido para determinar os valores de referência entre géneros e para incluir números aproximadamente semelhantes de indivíduos do sexo masculino e do sexo feminino em cada faixa etária ou subgrupo de estádios Tanner. O estádio Tanner do indivíduo foi avaliado com base no desenvolvimento de pelos púbicos e genitália/peito. Para a determinação dos estádios Tanner, foi utilizada a escala proposta por Neinstein e Kaufman[13].

Os intervalos de referência e os valores de Tanner baseiam-se nos 90% centrais (5.º e 95.º percentis). Embora as amostras fossem de tamanho insuficiente para calcular o 5.º ou o 95.º percentil, os valores mínimo e máximo observados são apresentados nas tabelas de Intervalos de referência.

Intervalos de referência pediátricos do LH IMMULITE 2000/2000 XPi

Sexo	Idade (anos)	*n*	Mediana	Intervalo
			mIU/mL (IU/L)	
Masculino	2 – 3	10	0,1	< 0,1* – > 0,2†
	4 – 9	57	0,1	< 0,1 – 0,4
	10 – 12	89	0,7	< 0,1 – 2,8
	13 – 21	151	2,3	0,8 – 6,0
Feminino	2 – 3	17	0,1	< 0,1* – > 0,3
	4 – 9	46	< 0,1	< 0,1 – 0,4
	10 – 12	93	2,2	< 0,1 – 9,5
	13 – 21	127	4,0	1,0 – 39,3

*O valor apresentado é o valor mínimo doseável observado; amostra de tamanho insuficiente para calcular o limite do 5.º percentil.

† O valor apresentado é o valor máximo observado; amostra de tamanho insuficiente para calcular o limite do 95.º percentil.

Intervalos de referência pediátricos do LH IMMULITE 2000/2000 XPi por estádio Tanner

Sexo	Estádio Tanner	*n*	Mediana	Intervalo
			mIU/mL (IU/L)	
Masculino	1	73	0,1	< 0,1 – 0,8
	2	64	0,6	< 0,1 – 2,6
	3	63	1,7	0,4 – 4,4
	4	59	2,2	0,9 – 7,5
	5	48	3,3	1,0 – 6,4
Feminino	1	72	0,1	< 0,1 – 3,9
	2	47	1,4	< 0,1 – 9,5
	3	65	3,0	0,7 – 13,0
	4	47	4,2	0,8 – 29,9
	5	52	4,1	0,6 – 49,0

Estes valores devem ser considerados apenas como *directrizes*. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores.

Limitações

Devido à secreção pulsátil, amostras obtidas no mesmo dia de um mesmo paciente podem flutuar amplamente dentro do valor de referência, reflectindo variações fisiológicas ao invés de erros na técnica ou metodologia.

Nos ensaios de HCG a percentagem de reacção cruzada é baixa e em circunstâncias normais não tem impacto. Contudo, quando são testadas amostras com niveis elevados de HCG, como nos casos de mulhers grávidas ou de doenças trofoblasticas ou cancro do testiculo, os niveis de LH podem estar falsamente elevados pela reacção cruzada com a HCG.

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* 1998:34:27-33.] 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 apresentados em mIU/mL. Salvo referência em contrário, todos os dados provêm de amostras de soro colhidas tubos sem anticoagulantes, barreiras de gel ou aditivos promotores da coagulação.

Calibração: Até 200 mIU/mL (WHO 1st IRP 68/40 e 2nd IS 80/552)

Sensibilidade Analítica: 0,05 mIU/mL

Efeito Hook de Alta Dose: nenhum até 85 000 mIU/mL

Precisão: As amostras foram doseadas em duplicado durante 20 dias, 2 ensaios por dia, perfazendo um total de 40 ensaios e 80 réplicas. (Ver a tabela de "Precisão".)

Linearidade: As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. (Ver a tabela de "Linearidade" para dados representativos.)

Recuperação: As amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 com quatro soluções (200, 400, 1000 e

2000 mIU/mL) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recuperação" para dados representativos.)

Especificidade: O doseamento é específico para a LH. (Ver tabela de "Especificidade".)

Bilirrubina: A presença de bilirrubina em concentrações até 200 mg/L não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Biotina: As amostras que contenham biotina a uma concentração de 1500 ng/ml demonstram uma alteração igual ou inferior a 10% nos resultados. Concentrações de biotina superiores a esta poderão originar resultados incorretos para as amostras de doentes.

Hemolise: A presença de hemoglobina em concentrações até 188 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipémia: A presença de triglicéridos iem concentrações até 3000 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Comparação de métodos:
O doseamento foi comparado ao LH IMMULITE em 105 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 1 a 140 mIU/mL. Ver gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 1,04 (IML) – 0,25 mIU/mL
r = 0,972

Médias:
26 mIU/mL (IMMULITE 2000)
26 mIU/mL (IMMULITE)

Assistência Técnica

Contacte o seu distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE is a trademark of
Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2018 Siemens Healthcare Diagnostics.
All rights reserved.

Made in: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

2018-03-15

PIL2KLH – 24

cc#EU23262, cc#EU23262A, cc#EU23343

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol Definition

IVD

En: *In vitro* diagnostic medical device
De: Medizinisches Gerät zur *In-vitro* Diagnose
Es: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
Fr: Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
It: Dispositivo medico per diagnostica *in vitro*
Pt: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

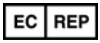
REF

En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo

Symbol Definition



En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante



En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia



En: CE Mark
De: CE-Kennzeichen
Es: Marca CE
Fr: Marque CE
It: Marchio CE
Pt: Marca CE



En: CE Mark with identification number of notified body
De: CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle
Es: Marca CE con número de identificación del organismo notificado
Fr: Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié
It: Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato
Pt: Marca CE, com número de identificação do organismo notificado



En: Consult instructions for use
De: Bedienungshinweise beachten
Es: Consulte las instrucciones de uso
Fr: Consulter le mode d'emploi
It: Consultare le istruzioni per l'uso
Pt: Consulte as instruções de utilização

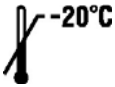
Symbol Definition



En: Caution! Potential Biohazard
De: Vorsicht! Biologisches Risikomaterial
Es: ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial
Fr: Avertissement ! Risque biologique potentiel
It: Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico
Pt: Atenção! Potenciais Riscos Biológicos



En: Temperature limitation (2–8°C)
De: Temperaturgrenze (2–8°C)
Es: Limitación de temperatura (2–8°C)
Fr: Limites de température (2–8°C)
It: Limiti di temperatura (2–8°C)
Pt: Limites de temperatura (2–8°C)



En: Upper limit of temperature (≤ -20°C)
De: Obere Temperaturgrenze (≤ -20°C)
Es: Límite superior de temperatura (≤ -20°C)
Fr: Limite supérieure de température (≤ -20°C)
It: Limite superiore di temperatura (≤ -20°C)
Pt: Limite máximo de temperatura (≤ -20°C)



En: Lower limit of temperature (≥ 2°C)
De: Mindesttemperatur (≥ 2°C)
Es: Límite inferior de temperatura (≥ 2°C)
Fr: Limite inférieure de température (≥ 2°C)
It: Limite inferiore di temperatura (□≥ 2°C)
Pt: Limite mínimo de temperatura (≥ 2°C)



En: Do not freeze (> 0°C)
De: Nicht einfrieren (> 0°C)
Es: No congelar (> 0°C)
Fr: Ne pas congeler (> 0°C)
It: Non congelare (> 0°C)
Pt: Não congelar (> 0°C)



En: Do not reuse
De: Nicht zur Wiederverwendung
Es: No reutilizar
Fr: Ne pas réutiliser
It: Non riutilizzare
Pt: Não reutilizar

Symbol	Definition
	**En:** Keep away from sunlight **De:** Vor Sonneneinstrahlung schützen **Es:** Proteger de la luz solar **Fr:** Maintenir hors de portée de la lumière du soleil **It:** Non esporre alla luce del sole **Pt:** Manter afastado da luz solar
LOT	**En:** Batch code **De:** Chargenbezeichnung **Es:** Número de lote **Fr:** Numéro de code du lot **It:** Codice lotto **Pt:** Código de lote
	**En:** Contains sufficient for (n) tests **De:** Es reicht für (n) Tests **Es:** Contiene suficiente para (n) pruebas **Fr:** Contient du matériel suffisant pour (n) tests **It:** Contiene materiale sufficiente per (n) test **Pt:** Contém o suficiente para (n) testes
2008-01	**En:** Date format (year-month) **De:** Datumsformat (Jahr-Monat) **Es:** Formato de fecha (año-mes) **Fr:** Format de la date (année-mois) **It:** Formato data (anno-mese) **Pt:** Formato de data (ano-mês)
	**En:** Use by **De:** Verwendbar bis **Es:** Fecha de caducidad **Fr:** A utiliser avant **It:** Usare entro **Pt:** Usar até
	**En:** Health Hazard **De:** Gesundheitsgefährdung **Es:** Peligro para la salud **Fr:** Dangereux pour la santé **It:** Pericolo per la salute **Pt:** Perigo para a saúde
	**En:** Exclamation Mark **De:** Ausrufezeichen **Es:** Signo de exclamación **Fr:** Point d'exclamation **It:** Punto esclamativo **Pt:** Ponto de exclamação
	**En:** Corrosion **De:** Korrosion **Es:** Corrosión **Fr:** Corrosion **It:** Corrosione **Pt:** Corrosão

Symbol	Definition
	**En:** Skull and Crossbones **De:** Totenkopf mit gekreuzten Knochen **Es:** Calavera y tibias cruzadas **Fr:** Tête de mort sur tibias croisés **It:** Teschio e tibie incrociate **Pt:** Caveira sobre tíbias cruzadas
	**En:** Environment **De:** Umwelt **Es:** Medio ambiente **Fr:** Environnement **It:** Ambiente **Pt:** Ambiente
BEAD PACK	**En:** Bead Pack **De:** Kugel-Container **Es:** Cartucho de bolas **Fr:** Cartouche de billes **It:** Contenitore di biglie **Pt:** Embalagem de esferas
TEST UNIT	**En:** Test Unit **De:** Testeinheit **Es:** Unidades de análisis **Fr:** Unité de test **It:** Test Unit **Pt:** Unidades de Teste
REAG WEDGE REAG WEDGE A REAG WEDGE B REAG WEDGE D	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto

Symbol	Definition
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL CONTROL 1 CONTROL 2 CONTROL 3	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo

Symbol	Definition
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

OM-MA

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 OM-MA

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the quantitative measurement of CA125 antigen in serum, as an aid in monitoring the response to therapy for patients with epithelian ovarian cancer, and in detecting residual ovarian cancer in patients who have undergone first-line therapy and would be considered for diagnostic second-look procedures.

Catalog Number: **L2KOP2** (200 tests)

Test Code: **OV** Color: **Aqua**

Caution: In the United States, federal law restricts this device to sale by or on the order of a physician.

> CA125 antigen levels in a given specimen determined with assays from different manufacturers can vary due to differences in assay methods and reagent specificity. Results reported by the laboratory to the physician must include the identity of the assay used to measure CA125 antigen levels. Values obtained with different assays cannot be used interchangeably. Before changing assays, the laboratory must confirm baseline values for patients being serially monitored.

Summary and Explanation

The CA125 determinant was originally identified by a monoclonal antibody, selected for reactivity with a cell line from a patient with serous papillary cystadenocarcinoma of the ovary. This antibody was found to react with cell lines derived from epithelial ovarian carcinomas but not with nonmalignant tissues including normal adult and fetal ovary.[1,2]

Although the precise nature of the CA125 determinant remains unclear, there is agreement that the molecule is a high molecular weight (1000 kDa) glycoprotein with a smaller quantity of carbohydrate than mucins.[2] There is some evidence that more than one form of the CA125 molecule exists.[3,4]

Epithelial neoplasms of the ovary originate from the single layer of cells covering the ovary. These epithelial cells have a high proliferative capacity, repairing the ovarian surface after ovulation. Suppression of ovulation by oral contraceptives, pregnancy and lactation may therefore reduce the risk of ovarian cancer.[5] Ovarian malignancy has been associated with a variety of peptide growth factors, oncogenes and tumor suppressor genes.[5] According to a recent study comprising approximately 10% of the US population, more than 48% of ovarian cancer can be found in women 65 years of age and older, rather than in younger women. The incidence increases with age, reaching a peak of 54 in every 100,000 women in the age group 75 to 79 years.[6]

Measurement of CA125 before and after cytoreductive surgery for ovarian cancer has been shown to predict the likelihood of a patient being left with residual disease.[11]

IMMULITE 2000 OM-MA uses a murine monoclonal antibody for the capture and a rabbit polyclonal antibody for detection of the CA125 antigen. The monoclonal antibody was established by immunization with human mucin prepared from a pool of patients with epithelial ovarian cancer. The monoclonal antibody, which forms the basis of specificity for the kit, recognizes a repetitive protein determinant expressed in the protein core of the CA125 antigen.

This antibody has specificity for an epitope that overlaps with, or is very near to, that bound by the M11 monoclonal antibody. The M11 monoclonal is incorporated in many commercially available CA125 immunoassays.[15] The polyclonal antibody is affinity-purified against CA125 antigen, resulting in a reagent reacting with multiple epitopes on this antigen.

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 OM-MA is a solid-phase, two-site 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 OM-MA has not been tested with all possible variations of tube types.

Volume Required: 50 µL serum

Storage: 1 day at 2–8°C or 2 months at –20°C.[14]

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.

Results reported by the laboratory to the physician must include the identity of the assay used to measure CA125 antigen levels. Values obtained with different assays cannot be used interchangeably.

Materials Supplied

Components are a matched set. The barcode labels are needed for the assay.

OM-MA Bead Pack (L2OP12)
With barcode. 200 beads, coated with murine monoclonal anti-CA125 antibody. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KOP2: 1 pack

OM-MA Reagent Wedge (L2OPA2)
With barcodes. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to rabbit polyclonal anti-CA125 antibody in buffer, with preservative; 6.5 mL of a buffer, with preservative. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KOP2: 1 wedge

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.

OM-MA Adjustors (LOPL, LOPH)
Two vials (Low and High), 3 mL each, of CA125 in a nonhuman protein/buffer matrix, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KOP2: 1 set

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

OM-MA Sample Diluent (L2OPZ)
For the on-board dilution of high samples. 25 mL of concentrated (ready-to-use) processed, CA125-free nonhuman protein/buffer matrix. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test

tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.
L2OPZ: 3 labels

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate
L2PWSM: Probe Wash
L2KPM: Probe Cleaning Kit
LRXT: Reaction Tubes (disposable)
L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

Also Required
Distilled or deionized water, test tubes, controls

Assay Procedure

See the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual for preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual.

Recommended Adjustment Interval: 4 weeks

Quality Control Samples: Follow government regulations or accreditation requirements for quality control frequency.

Use controls or sample pools with at least two levels (low and high) of CA125.

Siemens Healthcare Diagnostics recommends the use of commercially available quality control materials with at least 2 levels (low and high). A satisfactory level of performance is achieved when the analyte values obtained are within the Acceptable Control Range for the system, or within an established range determined by an appropriate internal laboratory quality control scheme.

Interpretation of Results

An IMMULITE 2000 OM-MA result of 21 U/mL or greater is considered elevated and a result less than 21 U/mL is considered normal.

Users should be aware that a result greater than or equal to 21 U/mL may be found in a small percentage of healthy individuals and in patients with nonmalignant conditions, such as pericarditis, cirrhosis, severe hepatic necrosis, endometriosis (Stages II-IV), first trimester pregnancy, and ovarian cysts, or in patients with non-ovarian malignancies, such as uterine carcinoma, hepatoma, pancreatic adenocarcinoma, and lung cancers.

A result below 21 U/mL does not necessarily indicate the absence of residual or recurrent ovarian cancer because some patients with histopathologic evidence of ovarian carcinoma may have CA125 measurements below 21 U/mL.

The unit (U/mL) adopted by the IMMULITE 2000 OM-MA is arbitrary. Since there are no existing standard reference units, users should **not** make quantitative comparisons between different methods of measuring CA125. Results reported by the laboratory to the physician must include the identity of the assay used to measure CA125 antigen levels. Values obtained with different assays cannot be used interchangeably.

Expected Values

Based on its relationship to IMMULITE OM-MA (see Method Comparison), the assay can be expected to have essentially the same reference ranges.

Sixty-four serum samples from female adults (age range: 17–86 years) in apparent good health were included in the two clinical sites. They were tested by the IMMULITE OM-MA assay. The results ranged from 1.9 to 16.3 U/mL, with a median of 4.8 U/mL. The graph shows the distribution of the CA125 values. (See “Female Normals” Graph.)

The same studies also included adult female patients with ovarian cancer, nonmalignant (gastrointestinal, genitourinary and other nonmalignant diseases) and malignant conditions (breast, gastrointestinal, genitourinary and other cancers). The distributions of these patients, as well as male and female healthy individuals included in the studies, are shown below for the ranges of CA125 measurement indicated.

Healthy Subjects:

Healthy Subjects	< 21 U/mL	≥ 21 – <50 U/mL	≥ 50 – <100 U/mL	≥100 U/mL	*n*
Female	64	0	0	0	64
<50 years	50	0	0	0	50
≥50 years	14	0	0	0	14
Male	28	0	0	0	28

Patients:

Patients	< 21 U/mL	≥ 21 – <50 U/mL	≥ 50 – <100 U/mL	≥100 U/mL	*n*
Ovarian Cancer	36	10	7	43	96
Nonmalignant Conditions					
GI	5	0	1	0	6
GU	7	0	0	1	8
Others	40	4	0	0	44
Malignant Conditions					
Breast	11	2	1	0	14
GI	3	2	1	0	6
GU	4	1	2	4	11
Others	9	3	0	6	18

Elevated levels of CA125 may be associated with endometriosis,[12] the first trimester of pregnancy,[13] menstruation, and cancer of the pancreas, stomach, colon or rectum.[2]

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 U/mL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Calibration Range: Up to 500 U/mL

The assay is traceable to an internal standard manufactured using qualified materials and measurement procedures.

Analytical Sensitivity: 1 U/mL

High-dose Hook Effect:
None up to 80,000 U/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 CA125 solutions (1025, 1950 and 4080 U/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody is highly specific for CA125. (See "Specificity" table.)

Bilirubin: Presence of bilirubin in concentrations up to 200 mg/L has no effect on results, within the precision of the assay.

Biotin:

Biotin Test Level (ng/mL)	OM-MA (CA125) Concentration (U/mL)	
	15.2	189
	Bias (%)	
5.0	7	0
9.0	14	8
19.0	22	19
32.0	20	26
100	40	26
1500	36	32

Specimens that contain biotin at a concentration of 5 ng/mL demonstrate a less than or equal to 10% change in

results. Biotin concentrations greater than this may lead to falsely elevated results for patient samples.

The recommended adult daily dietary intake for biotin is 30 µg/day. Over the counter dietary supplements promoted for use in hair, skin and nail health may contain 5–100 mg of biotin, with recommendations to take multiple pills per day. Pharmacokinetic studies in healthy adults have shown that, in subjects ingesting 5 mg, 10 mg, and 20 mg of biotin, serum concentrations of biotin can reach up to 73 ng/mL, 141 ng/mL, and 355 ng/mL, respectively.[17] Subjects who take up to 300 mg of biotin per day may have plasma biotin levels as high as 1160 ng/mL.[18]

Hemolysis: Presence of hemoglobin in concentrations up to 192 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 3000 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Method Comparison: The assay was compared to IMMULITE OM-MA (mono/poly, LKOP) on 161 samples. (Concentration range: 4.16 to 364.7 U/mL. See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 0.97 (IML) + 0.30 U/mL
r = 0.985

Means:
106 U/mL (IMMULITE 2000)
109 U/mL (IMMULITE)

References

1) Bast RC Jr, et al. Reactivity of a monoclonal antibody with ovarian carcinoma. J Clin Invest 1981;68:1331-7. 2) Jacobs I, et al. The CA125 tumour-associated antigen: a review of the literature. Hum Reprod 1989;4(1):1-12. 3) Hosono MN, et al. Different antigenic nature in apparently healthy women with high serum CA125 levels compared with typical patients with ovarian cancer. Cancer 1992;70(12): 2851-6. 4) Kaneko Y, et al. Study for the nature of interfering substances responsible for nonspecific reactive phenomena occurred occasionally in EIA determination of CA125. Rinsho-Byori 1992;40(9):948-52. 5) Bast RC Jr, et al. Cell growth regulation in epithelial ovarian cancer. Cancer 1993;71(4):1597-601. 6) Yancik R. Ovarian cancer. Cancer 1993;71(2):517-23. 7) Nagell JR van. Ovarian cancer screening. Cancer 1993;71(4):1523-8. 8) Kramer BS et al. A National Cancer Institute sponsored screening trial for prostatic, lung, colorectal and ovarian cancers. Cancer 1993;71(2):589-93. 9) Bast RC Jr, et al. Perspectives on the future of cancer markers. Clin Chem 1993;39(11):2444-51. 10) Jacobs I, et al. Multimodal approach to screening for ovarian cancer. Lancet 1988;i: 268-71. 11) Brand E, et al. The decline of CA125 level after surgery reflects the size of residual ovarian cancer. Obstet Gynecol 1993;81(1):29-32. 12) Pittaway DE. CA-125 in women with endometriosis. Obstet Gynecol Clin North Am 1989;16(1):237-52. 13) Niloff JM, et al. CA125 antigen levels in obstetric and gynecologic patients. Obstet Gynecol 1984;64(5):703-7. 14) Bonfrer JMG, et al. Technical evaluation of three second generation CA125 assays. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1994;32:201-7. 15) Nustad K, Bast RC, O'Brien TJ, et al. Specificity and affinity of 26 monoclonal antibodies against CA125 antigen: first report from the ISOBM TD-1 Workshop. Tumor Biol 1996;17:196-219. 16) 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. 17) Grimsey P, et al. 2017. Population pharmacokinetics of exogenous biotin and the relationship between biotin serum levels and in vitro immunoassay interference. Int. J. Pharmacokinet. 2(4), 247-256. 18) Piketty ML, et al. 2017. High-dose biotin therapy leading to false biochemical endocrine profiles: validation of a simple method to overcome biotin interference. Clin Chem Lab Med. 55(6):817-825.

Technical Assistance

In the United States, contact Siemens Healthcare Diagnostics Technical Services department. Tel: 877.229.3711. Outside the United States, contact your National Distributor.

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

Precision (U/mL)

		Within-Run[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	5.6	0.22	3.9%	0.61	11%
2	23	1.1	4.8%	1.2	5.2%
3	41	1.8	4.4%	1.9	4.6%
4	92	3.7	4.0%	4.7	5.1%
5	111	4.5	4.1%	5.0	4.5%
6	184	8.2	4.5%	9.2	5.0%
7	292	12	4.1%	15	5.1%
8	394	20	5.1%	21	5.3%

Linearity (U/mL)

	Solution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	8 in 8[5]	99	—	—
	4 in 8	53	50	106%
	2 in 8	27	25	108%
	1 in 8	13	12	108%
2	8 in 8	103	—	—
	4 in 8	57	52	110%
	2 in 8	30	26	115%
	1 in 8	16	13	123%
3	8 in 8	118	—	—
	4 in 8	65	59	110%
	2 in 8	35	30	117%
	1 in 8	17	15	113%
4	8 in 8	137	—	—
	4 in 8	68	69	99%
	2 in 8	35	34	103%
	1 in 8	16	17	94%

Recovery (U/mL)

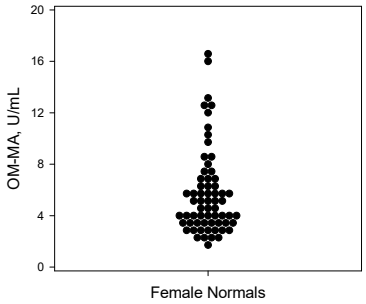
	Solution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	—	11	—	—
	A	52	62	84%
	B	97	108	90%
	C	172	215	80%
2	—	18	—	—
	A	66	68	97%
	B	114	115	99%
	C	206	221	93%
3	—	45	—	—
	A	90	94	96%
	B	136	140	97%
	C	230	247	93%
4	—	67	—	—
	A	116	115	101%
	B	157	161	98%
	C	245	268	91%

Specificity

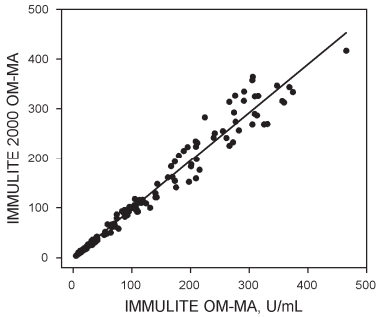
Compound[1]	Amount Added[2]	Apparent U/mL[3]	% Cross-reactivity[4]
AFP	10,000 IU/mL	ND	ND
CA15-3	1753 U/mL	7.1	0.41%
CA19-9	4000 U/mL	ND	ND
CEA	10,000 ng/mL	4.8	0.05%
Cisplatin	100 µg/mL	ND	ND
Cyclophosphamide	1000 µg/mL	ND	ND
Doxorubicin hydrochloride	100 µg/mL	ND	ND
5-Fluorouracil	1000 µg/mL	ND	ND
Mitomycin C	100 µg/mL	ND	ND
Vincristine	1000 ng/mL	ND	ND

ND: not detectable[5]

Expected Values



Method Comparison



(IML 2000) = 0.97 (IML) + 0.30 U/mL
r = 0.985

Deutsch. **Precision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]SD (Standardbereich), [5]CV (Variationskoeffizient). **Linearity**: [1]Verdünnung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Lösung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E. **Specificity**: [1]Verbindung, [2]zugesetzte Menge, [3] Ausgewiesene Konzentration, [4]% Kreuzreaktivität, [5]NN: Nicht nachweisbar. **Method Comparison**: OM-MA.

Español. **Precision**: [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV. **Linearity**: [1]Dilución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 en 8. **Recovery**: [1]Solución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Specificity**: [1]Compuesto, [2]Cantidad añadida, [3]Concentración aparente, [4]% Reacción cruzada, [5]ND: no detectable. **Method Comparison**: OM-MA.

Français. **Precision**: [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]SD, [5]CV. **Linearity**: [1]Dilution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A, [5]8 dans 8. **Recovery**: [1]Solution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A. **Specificity**: [1]Composé, [2]ajouté, [3]Concentration apparente, [4]Réaction croisée %. [5]ND: non détectable. **Method Comparison**: OM-MA.

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity**: [1]Diluizione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Soluzione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A. **Specificity**: [1]Composto, [2]quantità aggiunta, [3]Concentrazione apparente, [4]Percentuale di Crossreattività, [5]ND: non determinabile. **Method Comparison**: OM-MA.

Português. **Precision**: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação. **Linearity**: [1]Diluição, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 em 8. **Recovery**: [1]Solução, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Specificity**: [1]Composto, [2]Quantidade adicionada, [3]Apparent Concentration, [4]Percentagem de reacção cruzada, [5]ND: não detectável. **Method Comparison**: OM-MA.

Deutsch

OM-MA IMMULITE 2000

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme — zur quantitativen Messung von CA125 im Serum, als eine Hilfe beim Monitoring des Therapieerfolges bei Patientinnen mit epithelialem Ovarialkarzinom und beim Nachweis eines Residual-Ovarial-karzinoms bei Patientinnen, bei denen eine primäre Therapie durchgeführt wurde und weitere diagnostische Maßnahmen geplant sind.

Artikelnummern: **L2KOP2** (200 Tests)

Testcode: **OV** Farbe: **türkis**

Unterschiede in der jeweiligen Methodik oder der Spezifität der Reagenzien können dazu führen, das die mit Testsystemen von verschiedenen Herstellern ermittelten Konzentrationen an CA125 für dieselben Proben nicht einheitlich sind. In den vom Labor an den Arzt gemeldeten Ergebnissen muss das verwendete Testsystem ausgewiesen werden. Die mit verschiedenen CA125-Testsystemen erzielten Werte sind nicht austauschbar. Vor dem Umstieg auf ein anderes Testsystem müssen die Basiswerte für die seriell überwachten Patienten vom Labor verifiziert werden.

Klinische Relevanz

Ursprünglich wurde CA125 über seine Reaktivität mit einem monoklonalen Antikörper identifiziert, der durch Immunisierung mit einer humanen serösen Zystenadenom-Zellinie erzeugt wurde. Diese Antikörper reagieren mit den Zellen epithelialer Ovarialkarzinome, jedoch nicht mit nicht-malignem Gewebe einschließlich normal differenzierter bzw. fetaler Ovarien.[1,2]

Die Herkunft und genaue Funktion des CA125 Moleküles konnten bislang noch nicht abschließend geklärt werden. CA125 ist ein hochmolekulares Glykoprotein mit einen Molekulargewicht von ca. 1000 kDA, wobei der Anteil an Kohlenhydraten geringer ist als bei den Mucinen.[2] Mit hoher Wahrscheinlichkeit existiert mehr als eine Form des CA125 Moleküls.[3,4]

Epitheliale Tumore des Ovars entstammen der die Ovarien umhüllenden Zellschicht. Da diese Epithelzellen nach der Ovulation für die Regeneration der Oberfläche des Ovars verantwortlich sind, besitzen sie eine natürliche hohe Proliferationrate. Die Hemmung der Ovulation durch orale Kontrazeptive, Schwangerschaft und Stillen könnte daher das Risiko für Ovarialkarzinome verringern.[5] Die Entwicklung von malignen Ovarialtumoren wurde mit vielen verschiedenen wachstumsfördernden Peptiden, Onkogenen und Tumor-Suppressor Genen assoziiert.[5] In einer kürzlich veröffentlichen Studie auf der Basis von etwa 10 % der US Bevölkerung konnte gezeigt werden, dass mehr als 48 Prozent aller Ovarialkarzinome bei Frauen ab dem 65. Lebensjahr auftreten. Mit zunehmendem Alter steigt die Inzidenz der Ovarialkarzinome und erreicht bei Frauen der Altersgruppe von 75 bis 79 Jahren ein Maximum mit 54 pro 100 000 Frauen.[6]

Die Messung von CA125 vor und nach chirurgischen Eingriffen zur Reduktion der Tumormasse gibt wertvolle Hinweise auf möglicherweise zurückgebliebenes Tumorgewebe des Primärtumors.[11]

Der im IMMULITE 2000 OM-MA zum Immobilisieren verwendete monoklonale Antikörper (Maus) wurde durch Immunisierung mit einem Gemisch humaner Muzine gewonnen, die aus einem Kollektiv epithelialer Ovarialkarzimone isoliert wurden. Er erkennt eine repetitive Protein-determinante im Zentrum des CA125 Antigens.

Dieser Antikörper ist spezifisch gegen ein Epitop gerichtet, das mit dem Epitop für den monoklonalen Antikörper M11 zusammenfällt oder unmittelbar benachbart ist. Der monoklonale Antikörper M11 wird in vielen handelsüblichen CA125-Immunassays verwendet.[15] Der polyklonale Antikörper ist gegen das CA125-Antigen affinitätsgereinigt, wodurch das resultierende Antiserum mit mehreren Epitopen dieses Antigens reagiert.

Methodik

IMMULITE 2000 OM-MA ist ein Festphasen, Zwei-phasen 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 zurückhaltend zu interpretieren.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter 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 OM-MA sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden.

Erforderliche Menge: 50 µl Serum

Lagerung: 1 Tag bei 2–8°C oder 2 Monate bei –20°C.[14]

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.

In den vom Labor an den Arzt gemeldeten Ergebnissen muss das verwendete Testsystem ausgewiesen werden. Die mit verschiedenen CA125-Testsystemen erzielten Werte sind nicht austauschbar.

Im Lieferumfang enthalten

Die Bestandteile sind aufeinander abgestimmt. Die Aufkleber auf der Innenverpackung werden zur Testdurchführung gebraucht.

OM-MA Kugel-Container (L2OP12)
Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit monoklonalen anti-CA125 Antikörper (Maus). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KOP2: 1 Container

OM-MA - Reagenzbehälter (L2OPA2)
Mit Barcode. 11,5 ml alkalische Phophatase (Kalb) konjugiert mit polyklonalen anti-CA125 Antikörpern (Kaninchen) in Pufferlösung, mit Konservierungsmittel; 6,5 ml einer Pufferlösung, mit Konservierungsmittel. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KOP2: 1 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.

OM-MA Kalibratoren (LOPL, LOPH)
Zwei Fläschchen (Low und High) à 3 ml mit CA125 in einer nichthumanen Protein-Puffermatrix, mit Konservierungsmittel. 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KOP2: 1 Set

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Röhrchen kleben, so daß die Barcodes vom Barcodereader des Systems gelesen werden können.

Separat Erhältliche Testsystem-Komponenten

OM-MA–Verdünnungspuffer (L2OPZ)
Zur automatischen Verdünnung von Proben hoher Konzentration. Es enthält 25 ml Konzentrat (gebrauchsfertig), CA125-freie nicht-humane Protein- / Puffermatrix. 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, so dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2OPZ: 3 Etiketten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße
L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm)

für die Probenverdünnung
L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Röhrchen; Kontrollen

Testdurchführung

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Verdünnung, Kalibration, Test- und Qualitätskontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme.

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
4 Wochen

Qualitätskontrollseren: Jeweils gültige gesetzlichen Bestimmungen oder Akkreditierungsanforderungen sind bei der Festlegung der Intervalle zur Durchführung der Qualitätskontrollen zu berücksichtigen.

Kontrollen oder Seren mit CA125 in zumindest zwei Konzentrationen (niedrige und hohe) verwenden.

Siemens Healthcare Diagnostics empfiehlt die Verwendung von kommerziell verfügbaren Qualitätskontrollen in mindestens 2 Konzentrationen (niedrig und hoch). Der Systembetrieb gilt dann als zufriedenstellend, wenn die Analytwerte innerhalb des für das System zulässigen Kontrollbereichs oder des für die laborinternen Qualitätskontrollverfahren festgelegten zulässigen Bereichs liegen.

Interpretation der Ergebnisse

Mit dem IMMULITE 2000 Testsystem zur Bestimmung von OM-MA erzielte Ergebnisse von ≥ 21 U/ml gelten als erhöht und Ergebnisse von < 21 U/ml als normal.

Die Benutzer sollten sich bewusst sein, dass Ergebnisse von ≥ 21 U/ml auch bei einigen wenigen gesunden Personen sowie bei Patienten mit nichtkarzinomatösen Befunden wie Perikarditis, Zirrhose, schwere Lebernekrose, Endometriose (Stadium II-IV), erstes Schwangerschaftsdrittel, Ovarialzysten oder bei Patienten mit nichtovarialen Karzinomen wie Gebärmutterkrebs, Hepatom, pankreatisches Adenokarzinom sowie Lungenkarzinomen auftreten können.

Ein Ergebnis von unter 21 U/ml muss das Vorliegen eines verbliebenen oder rezidivierenden Ovarialkarzinoms nicht unbedingt ausschließen, denn manche Patienten mit einem positiven histopathologischen Befund können CA125-Werte von unter 21 U/ml aufweisen.

Die für das IMMULITE 2000 Testsystem für OM-MA verwendete Maßeinheit (U/ml) wurde willkürlich gewählt. Da keine standardisierte Referenzeinheiten existieren, **sollten keine** quantitativen Vergleiche zwischen unterschiedlichen Bestimmungstechniken für CA125 angestellt werden. In den vom Labor an den Arzt gemeldeten Ergebnissen muss das verwendete Testsystem ausgewiesen werden. Die mit verschiedenen CA125-Testsystemen erzielten Werte sind nicht austauschbar.

Referenzwerte

Aufgrund der guten Korrelationen zum IMMULITE-OM-MA-Testsystem (siehe „Methodenvergleich") ist zu erwarten, dass dieselben Referenzwerte gefunden werden.

64 Serumproben von klinisch unauffälligen erwachsenen Frauen (Alter: 17–86 Jahre) wurden an zwei klinischen Standorten mit dem IMMULITE-Testsystem zur Bestimmung von OM-MA untersucht. Die Ergebnisse bewegten sich zwischen 1,9 und 16,3 U/ml, der Median betrug 4,8 U/ml. (Siehe Grafik „Expected Values".)

Dieselbe Studie umfasste auch erwachsene weibliche Patienten mit Ovarialkarzinomen, nichtkarzinomatösen (Magen-Darm-Trakt, Urogenitaltrakt u.a.) sowie karzinomatösen (Brust, Magen-Darm-Trakt, Urogenitaltrakt u.a.) Befunden. Die Verteilung dieser Patienten

und der klinisch unauffälligen Personen nach Krankheiten bzw. Geschlecht wird nachstehend mit den Bereichen der ermittelten CA125-Werte in Bezug gesetzt.

Gesunde Probanden:

Gesunde Probanden	< 21 U/ml	≥ 21 – <50 U/ml	≥ 50 – <100 U/ml	≥100 U/ml	*n*
Frauen	64	0	0	0	64
< 50 Jahre	50	0	0	0	50
≥ 50 Jahre	14	0	0	0	14
Männer	28	0	0	0	28

Patienten:

Patienten	< 21 U/ml	≥ 21 – <50 U/ml	≥ 50 – <100 U/ml	≥100 U/ml	*n*
Ovarialkarzinom	36	10	7	43	96
Nichtkarzinomatöse Befunde					
GI	5	0	1	0	6
GU	7	0	0	1	8
Sonstige	40	4	0	0	44
Karzinomatöse Befunde					
Brust	11	2	1	0	14
GI	3	2	1	0	6
GU	4	1	2	4	11
Sonstige	9	3	0	6	18

Erhöhte CA125-Werte können mit Endometriose,[12] den ersten drei Schwangerschaftsmonaten,[13] Menstruation sowie Pankreas-, Magen-, Dickdarm- oder Rektalkarzinomen[2] verbunden sein.

Betrachten Sie diese Grenzwerte nur als *Richtlinien*. Jedes Labor sollte eigene Referenzbereiche ermitteln.

Grenzen der Methode

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 U/ml ausgedrückt. (Alle Daten wurden – sofern nicht anders angegeben – aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Messbereich: Bis 500 U/ml

Die Methode ist rückführbar auf einen internen Standard, der mittels qualifizierter Materialien und Messmethoden hergestellt wurde.

Analytische Sensitivität: 1 U/ml

High-Dose-Hook-Effekt:
Keiner bis zu 80 000 U/ml

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Testansätzen in Doppelbestimmung gemessen insgesamt 40 Bestimmungen und 80 Einzelmessungen. (Siehe Tabelle „Präzision“.)

Linearität: Proben wurden in verschiedenen Verdünnungen getestet. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Linearität“.)

Wiederfindung: Proben wurden mit drei CA125-Lösungen (1025, 1950 und 4080 U/ml) im Verhältnis von 1:19 versetzt. (Siehe Tabelle *”Recovery”* für representative Daten.)

Spezifität: Hochspezifischer Anti-CA125-Antikörper. (Siehe Tabelle „Spezifität“.)

Bilirubin: Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Biotin:

Biotin-Teststufe (ng/ml)	OM-MA- (CA125)-Konzentration (U/ml)	
	15,2	189
	% Abweichung	
5,0	7	0
9,0	14	8
19,0	22	19
32,0	20	26
100	40	26
1500	36	32

Proben, die Biotin in einer Konzentration von 5 ng/ml enthalten, zeigen eine Veränderung der Ergebnisse von kleiner oder gleich 10 %. Höhere Biotinkonzentrationen können zu falsch erhöhten Ergebnissen für Patientenproben führen.

Der empfohlene Referenzwert für die Aufnahme von Biotin für Erwachsene beträgt 30 µg/Tag. Rezeptfreie Nahrungsergänzungsmittel, die für gesunde Haare, Haut und Nägel vermarktet werden, können 5–100 mg Biotin enthalten, wobei eine Einnahmeempfehlung von mehreren Tabletten pro Tag besteht. Pharmakokinetische Studien mit gesunden Erwachsenen haben gezeigt, dass die Einnahme von 5 mg, 10 mg und 20 mg zu Biotin-Serumkonzentrationen von bis zu 73 ng/ml, 141 ng/ml und 355 ng/ml führen kann.[17] Studienteilnehmer, die bis zu 300 mg Biotin pro Tag einnehmen, können einen Biotin-Plasmaspiegel von 1160 ng/ml erreichen.[18]

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 192 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride hat in Konzentrationen bis zu 3000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Methodenvergleich: Der Assay wurde unter Verwendung von 161 Patientenproben mit IMMULITE OM-MA verglichen (mono/poly, LKOP). (Konzentrationsbereich ca. 4,16–364,7 U/ml. Siehe Grafik.) Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 0,97 (IML) + 0,30 U/ml
r = 0,985

Mittelwert:
106 U/ml (IMMULITE 2000)
109 U/ml (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

OM-MA

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE 2000 — para la medición cuantitativa del antígeno CA125 en suero, como ayuda en el control de la respuesta a la terapia de pacientes con cáncer ovárico epitelial y en la detección de cáncer ovárico residual en pacientes que hayan pasado la terapia de primera línea y que pueden tenerse en cuenta para los procedimientos de revisión de diagnóstico.

Números de Catálogo:
L2KOP2 (200 tests)

Código del Test: **OV** Color: **Agua**

La concentración de CA125 en una muestra dada, determinada mediante ensayos de distintos fabricantes, puede variar debido a diferencias en los métodos de ensayo y la especificidad del reactivo. Los resultados comunicados al médico por el laboratorio deben incluir la identidad del ensayo usado. Los valores obtenidos con distintos ensayos de CA125 no pueden intercambiarse. Antes de cambiar de ensayo, el laboratorio debe confirmar los valores de base para los pacientes que están siendo controlados en serie.

Resumen y Explicación del Test

El antígeno CA125 fue originalmente identificado por un anticuerpo monoclonal, seleccionado por su reactividad con la línea celular de un paciente con cistadenocarcinoma papilar seroso de ovario. Este anticuerpo también reaccionaba frente a líneas celulares de carcinomas epiteliales ováricos pero no con tejidos sanos, incluyendo ovarios normales de fetos y adultos[1,2].

Aunque la exacta naturales del CA125 permanece sin aclarar, hay un consenso de que la molécula es una glicoproteína de elevado peso molecular (1000 kDa) con menor cantidad de carbohidratos que las mucinas[2]. Hay alguna evidencia de la existencia de más de una forma de CA125[3,4].

Las neoplasias epiteliales son originadas en el ovario a partir de una capa de las células que recubren la superficie del ovario. Estas células epiteliales poseen una elevada capacidad proliferativa, reparando la superficie del ovario después de la ovulación. La supresión de la ovulación mediante anticonceptivos orales, embarazo y lactancia pueden reducir el riesgo de cáncer de ovario[5]. Procesos malignos en el ovario han sido asociados con una variedad de factores de crecimientos peptídicos, oncogenes y genes supresores de tumores[5]. De acuerdo con diversos estudios, sobre aproximadamente el 10% de la población de Estados Unidos, más del 48% de los cáncer de ovario han sido encontrados en mujeres de mas de 65 años, antes que en mujeres mas jóvenes. La incidencia de cáncer, se incrementa con la edad, alcanzando un pico de 54 UI/mL en todas las mujeres de un grupo de 100 000 entre 75 y 79 años[6].

La determinación del antígeno CA125 antes y después de la cirugía citoreductiva para el cáncer ovárico ha demostrado predecir la supervivencia del paciente sin enfermedad[11].

El IMMULITE 2000 OM-MA utiliza un anticuerpo monoclonal de ratón para la captura y un anticuerpo policlonal de conejo para la detección del antígeno CA125. El anticuerpo fue obtenido por inmunización con mucinas humanas preparadas a partir de una mezcla de sueros de pacientes con cáncer epitelial ovárico. El anticuerpo reconoce un determinante proteico repetitivo expresado en el núcleo proteico del antígeno CA125.

Este anticuerpo tiene una especificidad para un epítopo que se solapa con esa unión, o que está muy cerca de ella, por medio del anticuerpo monoclonal M11. El monoclonal M11 está incorporado a muchos inmunoensayos de CA125 disponibles en el mercado[15]. La afinidad del anticuerpo policlonal está purificada con respecto al antígeno CA125, lo que tiene como consecuencia un reactivo que reacciona con varios epítopos de su antígeno.

Principio del análisis

IMMULITE 2000 OM-MA es un ensayo inmunométrico con dos sitios de unión, quimioluminiscente en fase sólida.

Ciclos de incubación: 2 × 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 centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El OM-MA IMMULITE 2000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos.

Volumen requerido: 50 µl suero

Conservación: 1 día a 2–8°C, o 2 meses a –20°C[14].

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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las cañerias de cobre y plomo.

Sustrato quimioluminiscente: evite la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

Agua: Use agua destilada o desionizada.

Los resultados comunicados al médico por el laboratorio deben incluir la identidad del ensayo usado. Los valores obtenidos con distintos ensayos de CA125 no pueden intercambiarse.

Materiales Suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

Cartucho de bolas de OM-MA (L2OP12)
Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpos monoclonales murinos anti-CA125. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KOP2: 1 cartucho

Vial de reactivo de OM-MA (L2OPA2)
Con códigos de barras.11,5 ml Fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con anticuerpo policlonal de conejo anti-CA125 en solución tampón, con conservante; 6,5 ml de una solución tampón, con conservante. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KOP2: 1 vial

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 OM-MA (LOPL, LOPH)
Dos viales (bajo y alto) de cada uno con 3 ml de que contienen CA125 en una matriz de proteína no humana, en solución tampón, con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KOP2: 1 juego

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 OM-MA (L2OPZ)
Para la dilución de muestras de alta concentración dentro del equipo. 25 ml de un concentrado listo para usarse, compuesto de una matriz de proteínica no humana libre de CA125 en solución tampón. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) 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 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2OPZ: 3 etiquetas

L2SUBM: Substrato quimioluminiscente
L2PWSM: Lavado de sonda
L2KPM: Kit de limpieza de sonda
LRXT: Tubos de reacción (desechables)
L2ZT: 250 Tubos de Diluyente de la Muestra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tapones del Tubo del Diluyente de la Muestra

También necesarios
Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles

Ensayo

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Aviso: para obtener un funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000.

Intervalo de ajuste recomendado:
4 semanas

Muestras de Control de Calidad: Seguir las reglamentaciones gubernamentales o los requisitos de acreditación para conocer la frecuencia de control de calidad.

Utilizar controles o pooles de sueros con al menos dos niveles diferentes de CA125 (bajo y alto).

Siemens Healthcare Diagnostics recomienda el uso de materiales de control de calidad comercializados con al menos 2 niveles (bajo y alto). Un nivel de funcionamiento satisfactorio se consigue cuando los valores obtenidos del analito están dentro del rango de control aceptable para el sistema, o dentro del rango establecido determinado por un programa adecuado de control de calidad interno de laboratorio.

Interpretación de los resultados

Un resultado de OM-MA IMMULITE 2000 de 21 U/ml o más se considera elevado. Un resultado inferior a 21 U/ml se considera normal.

Los usuarios deben tener en cuenta que un resultado superior o igual a 21 U/ml puede hallarse en un pequeño porcentaje de individuos sanos y en pacientes con tumores benignos, como pericarditis, cirrosis, necrosis hepáticas graves (estadios II-IV), primer trimestre de embarazo y quistes ováricos, o en pacientes con tumores benignos no ováricos, tales como carcinoma uterino, hepatoma, adenocarcinoma pancreático y cáncer de pulmón.

Un resultado inferior a 21 U/ml no indica necesariamente la ausencia de cáncer ovárico residual o recurrente, porque algunos pacientes con evidencia histopatológica de carcinoma ovárico pueden tener niveles de CA125 inferiores a 21 U/ml.

La unidad (U/ml) adoptada por IMMULITE 2000 OM-MA es arbitraria. Puesto que no existen unidades de referencia estándar, los usuarios **no deben** hacer comparaciones cuantitativas entre diferentes métodos de medida de CA125. Los resultados comunicados al médico por el laboratorio deben incluir la identidad del ensayo usado. Los valores obtenidos con distintos ensayos de CA125 no pueden intercambiarse.

Valores Esperados

Basados en su relación, IMMULITE OM-MA (vea Método de Comparación), se espera que el ensayo tenga en términos generales los mismos intervalos de referencia.

Se incluyeron sesenta y cuatro muestras de suero de mujeres adultas (intervalo de edades: 17 a 86 años) en aparente estado de buena salud, procedentes de dos clínicas diferentes. Se analizaron con el ensayo IMMULITE OM-MA. Los resultados oscilaron entre 1,9 y 16,3 U/ml, con una mediana de 4,8 U/ml. El gráfico muestra la distribución de valores de CA125. (Véase el gráfico "Expected Values".)

Los mismos estudios incluyeron también a pacientes mujeres adultas que padecían cáncer ovárico, tumores benignos (gastrointestinal, genitourinario y de otros tipos) y malignos (cáncer de mama, gastrointestinal, genitourinario y de otros tipos). Las distribuciones de estas pacientes, así como las de varones y mujeres sanos incluidos en los estudios, se muestran a continuación para los intervalos de medida de CA125 indicados.

Sujetos sanos:

Sujetos sanos	<21 U/ml	≥ 21 – <50 U/ml	≥ 50 – <100 U/ml	≥100 U/ml	*n*
Mujeres	64	0	0	0	64
< 50 years	50	0	0	0	50
≥ 50 years	14	0	0	0	14
Hombres	28	0	0	0	28

Pacientes:

Pacientes	< 21 U/ml	≥ 21– <50 U/ml	≥ 50 – <100 U/ml	≥100 U/ml	*n*
Cáncer de ovario	36	10	7	43	96
Tumores benignos					
GI	5	0	1	0	6
GU	7	0	0	1	8
Otros	40	4	0	0	44
Tumores malignos					
Mama	11	2	1	0	14
GI	3	2	1	0	6
GU	4	1	2	4	11
Otros	9	3	0	6	18

Los niveles elevados de CA125 pueden asociarse con endometriosis[12], el primer trimestre del embarazo[13], la menstruación y el cáncer de páncreas, estómago, colon o recto[2].

Estos límites han de considerarse sólo como una *guía*. Cada Laboratorio deberá establecer sus propios rangos 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 ver las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en U/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.)

Rango de Calibración: Hasta 500 U/ml

El ensayo es trazable a un estándar interno fabricado usando procedimientos de medida y materiales cualificados.

Sensibilidad: 1 U/ml

Efecto de gancho a altas dosis: Ninguno hasta 80 000 U/ml

Precisión: Las muestras fueron analizadas por duplicado durante 20 días, en dos tandas de trabajo por día, para un total de 40 tandas y 80 replicados. (Ver la tabla de “Precision”.)

Linealidad: Las muestras fueron analizadas en varias diluciones. (Ver la tabla de “Linearity” para resultados representativos.)

Recuperación: Se analizaron muestras sobrecargadas 1 en 19 con tres soluciones de CA125 (1025, 1950 y 4080 U/ml). (Ver la tabla de “Recovery” para resultados representativos.)

Especificidad: El anticuerpo es altamente específico para CA125. (Véase la tabla “Especificidad”.)

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina, en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Biotina:

Nivel de análisis de biotina (ng/ml)	Concentración de OM-MA (CA125) (U/ml)	
	15,2	189
	Desviación (%)	
5,0	7	0
9,0	14	8
19,0	22	19
32,0	20	26
100	40	26
1500	36	32

Las muestras que contienen biotina en una concentración de 5 ng/ml han demostrado un cambio igual o inferior al 10% en los resultados. Las concentraciones de biotina superiores a esta pueden producir resultados falsamente elevados en las muestras de los pacientes.

La ingesta alimenticia de biotina recomendada en adultos es de 30 µg/día. Los suplementos alimentarios sin receta que se anuncian para mejorar el estado del cabello, la piel y las uñas pueden contener 5–100 mg de biotina, y lo que se recomienda es tomar varias píldoras al día. En estudios farmacocinéticos en adultos sanos se ha observado que, en individuos que toman 5 mg, 10 mg y 20 mg de biotina, las concentraciones en suero de biotina pueden alcanzar hasta 73 ng/mL, 141 ng/mL y 355 ng/mL, respectivamente.[17] Los individuos que toman hasta 300 mg de biotina al día pueden presentar unos niveles de biotina en plasma de hasta 1160 ng/mL.[18]

Hemolisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 192 mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Lipemia: La presencia de triglicéridos en concentraciones hasta 3000 mg/dl no tiene efecto alguno en los resultados, en lo correspondiente a la precisión del ensayo.

Comparación de los métodos:
El ensayo se ha comparado con el IMMULITE OM-MA (mono/poly, LKOP) en 161 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente 4,16 a 364,7 U/ml. Véase el gráfico.)
Por regresión lineal:

(IML 2000) = 0,97 (IML) + 0,30 U/ml
r = 0,985

Medias:
106 U/ml (IMMULITE 2000)
109 U/ml (IMMULITE)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

OM-MA

Domaine d'utilisation : Dosage quantitatif de l'antigène CA125 dans le sérum. Réservé à un usage diagnostique *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000, ce test constitue une aide pour le suivi des patientes ayant un cancer de l'épithélium ovarien, et pour la détection de tumeurs ovariennes résiduelles chez des patientes ayant achevé un traitement de première intention et pour lesquelles on envisagerait de renouveler la procédure diagnostique.

Référence catalogue :
L2KOP2 (200 tests)

Code produit : **OV**
Code couleur : **bleu vert**

Pour un échantillon donné, la concentration d'antigène CA125 mesurée par les coffrets de dosage de différents fabricants pourra varier en raison des différences intrinsèques des procédés utilisés et de la spécificité des réactifs. Les résultats transmis par le laboratoire au médecin doivent impérativement comporter la méthode de dosage utilisée. Les valeurs obtenues avec différents coffrets de dosage de CA125 ne sont pas interchangeables. Avant de changer de méthode de dosage, le laboratoire devra impérativement valider les valeurs de base utilisées pour les patients suivis par intervalle.

Introduction

Le déterminant antigénique CA125 a été à l'origine identifié par un anticorps monoclonal sélectionné pour sa réactivité avec une lignée cellulaire d'un patient atteint d'un cystoadénocarcinome papillaire séreux de l'ovaire. Il a été montré que cet anticorps réagissait avec des lignées cellulaires provenant de carcinomes de l'épithélium ovarien mais pas avec des tissus non malins originaires d'ovaire adulte normal et fœtal.[1,2]

Bien que la nature précise du déterminant antigénique CA125 reste mal définie, il est certain qu'il s'agit d'un glycoprotéine de haut poids moléculaire (1000 KD), avec une plus petite quantité de carbohydrates que de mucines.[2] Il a été montré qu'il existe plus d'une forme de CA125.[3,4]

La tumeur épithéliale de l'ovaire prend naissance dans la première couche de l'épithélium d'enveloppe de l'ovaire. Ces cellules épithéliales ont une forte capacité proliférative, permettant la reconstitution de la surface cellulaire après l'ovulation. La suppression de l'ovulation par contraceptifs oraux, la grossesse et l'allaitement pourraient par conséquent réduire le risque de cancer de l'ovaire.[5] Les cancers de l'ovaire ont été associés a une variété de molécules comme des facteurs de croissance peptidiques, des oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeurs.[5] Selon une étude récente comprenant approximativement 10 % de la population des Etats-Unis, plus de 48 % des cancers de l'ovaire ont été observés chez des femmes de 65 ans et plus, plutôt que chez des jeunes femmes. Le risque augmente avec l'âge, atteignant un pic de 54 pour 100000 femmes dans un groupe d'âge de 75 à 79 ans.[6]

Le dosage de l'antigène CA125 avant et après chirurgie cytoréductrice du cancer de l'ovaire peut être utilisé pour établir un pronostic d'une maladie résiduelle.[11]

La trousse IMMULITE 2000 OM-MA utilise un anticorps de capture monoclonal murin et un anticorps polyclonal de lapin pour la détection de l'antigène CA125. L'anticorps monoclonal a été obtenu par immunisation avec des mucines d'origine humaine préparées à partir de groupes de patientes atteintes de cancer de l'épithélium ovarien. Cet anticorps monoclonal, responsable de la spécificité du test, reconnaît un déterminant protéique répétitif exprimé dans la partie protéique centrale de l'antigène CA125.

Cet anticorps est spécifique d'un épitope situé à l'emplacement ou très près de l'endroit où se fixe l'anticorps monoclonal M11. L'anticorps monoclonal M11 est utilisé dans de nombreux immunodosages du commerce pour le CA125.[15] L'anticorps polyclonal est purifié grâce à son affinité contre l'antigène CA125, ceci produit un réactif réagissant avec de multiple épitopes sur cet antigène.

Principe du test

IMMULITE 2000 OM-MA est un dosage chimiluminescent immunométrique, en deux étapes, 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 dûs 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 OM-MA IMMULITE 2000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles.

Volume nécessaire : 50 µl sérum

Conservation : 1 jour à 2–8°C ou 2 mois à –20°C.[14]

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 les contaminations et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

Eau : Utiliser uniquement de l'eau distillée ou désionisée.

Les résultats transmis par le laboratoire au médecin doivent impérativement comporter la méthode de dosage utilisée pour mesurer les taux d'antigène CA125.

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 OM-MA (L2OP12)
Avec code-barres. 200 billes revêtues d'un anticorps murin anti-CA125. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption
L2KOP2 : 1 cartouche

Cartouche-réactifs OM-MA (L2OPA2)
Avec code-barre. 11,5 ml de phosphatase alcaline (intestins de veaux) conjuguée à un anticorps polyclonal de lapin dirigé contre l'antigène CA125 dans un tampon, avec un conservateur ; 6,5 ml de tampon avec conservateur. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KOP2 : 1 cartouche

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 OM-MA (LOPL, LOPH)
2 flacons d'ajusteurs (« haut » et « bas ») contenant chacun 3 ml de CA125 dans une matrice tampon/ protéines non-humaines, avec un conservateur. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KOP2 : 1 jeu

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes (fournies avec le coffret) correspondant à l'aliquot sur des tubes en verre de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur interne.

Composants du coffret fournis séparément

Diluant échantillon OM-MA (L2OPZ)
Pour la dilution à bord des échantillons de concentration élevée. 25 ml d'une matrice de tampon/protéines non humaines sans CA125 concentrée (prête à l'emploi), prétraitée. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.

Les étiquettes à code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 × 100 mm de telle façon que le code-

barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2OPZ : 3 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 × 100 mm)
L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

Egalement requis
Eau distillée ou désionisée ; tubes en verre ; contrôles

Protocole de dosage

Voir le Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000 pour la préparation, le démarrage du système, la dilution, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000.

Intervalle d'ajustement recommandé :
4 semaines

Echantillons pour le contrôle de qualité :
Suivre les réglementations gouvernementales et les exigences relatives aux accréditations en matière de fréquence de contrôle qualité.

Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) de CA125.

Siemens Healthcare Diagnostics recommande d'utiliser des échantillons de contrôle de qualité en vente dans le commerce et comprenant au moins 2 niveaux (bas et haut). Un niveau de performance satisfaisant est atteint lorsque les valeurs d'analyte obtenues se situent dans l'intervalle de contrôle acceptable du système ou dans un intervalle déterminé par un schéma de contrôle de qualité approprié interne au laboratoire.

Interprétation des résultats

Un résultat IMMULITE 2000 OM-MA supérieur ou égal à 21 U/ml est considéré élevé. Une valeur inférieure à 21 U/ml est considérée normale.

L'utilisateur devra être conscient qu'un résultat supérieur ou égal à 21 U/ml peut toutefois être obtenu chez un faible pourcentage de patientes en bonne santé et de patientes ayant une affection non-maligne, comme une péricardite, une cirrhose, une nécrose hépatique grave, une endométriose (stades II-IV), un kyste ovarien, ou chez des patientes enceintes de moins de trois mois, ainsi que chez des patientes ayant un cancer non-ovarien, comme un cancer de l'utérus, un hépatome, un adénocarcinome pancréatique ou un cancer des poumons.

Un résultat inférieur à 21 U/ml ne signifie pas nécessairement l'absence de tumeur ovarienne résiduelle ou récurrente, puisque certaines patientes présentant des signes histopathologiques de cancer des ovaires sont susceptibles d'avoir des mesures de CA125 inférieures à 21 U/ml.

L'unité « U/ml » adoptée pour le dosage OM-MA (CA125) IMMULITE 2000 est arbitraire. Puisqu'il n'existe aucun standard international, l'utilisateur **ne devra pas** faire de comparaison quantitative entre différentes méthodes de dosage du CA125. Les résultats transmis par le laboratoire au médecin doivent impérativement comporter la méthode de dosage utilisée. Les valeurs obtenues avec différents coffrets de dosage de CA125 ne sont pas interchangeables.

Valeurs de référence

Compte tenu de sa corrélation avec le test IMMULITE OM-MA (voir comparaison de méthodes), on peut attendre du test IMMULITE 2000 OM-MA qu'il présente le même domaine de référence.

64 prélèvements sériques réalisés sur des femmes adultes âgées de 17 à 86 ans, en bonne santé apparente, ont été retenus par deux centres investigateurs. Ils ont été dosés par le test IMMULITE OM-MA (CA125). Les résultats allaient de

1,9 à 16,3 U/ml, avec une médiane de 4,8 U/ml. Le graphique montre la distribution des valeurs de CA125. (Voir le graphique « Expected Values ».)

Les même études ont été reprises sur des patientes adultes ayant un cancer des ovaires ou une affection non-maligne (gastro-intestinale, génito-urinaire, etc.) ou maligne (mammaire, gastro-intestinale, génito-urinaire, etc.). La distribution de ces patientes, de même que le nombre d'hommes et de femmes inclus dans les études, sont indiqués ci-dessous pour les intervalles de concentration de CA125 correspondants.

Sujets en bonne santé :

Sujets en bonne santé	< 21 U/ml	≥ 21 – <50 U/ml	≥ 50 – <100 U/ml	≥100 U/ml	*n*
Femme	64	0	0	0	64
< 50 years	50	0	0	0	50
≥ 50 years	14	0	0	0	14
Homme	28	0	0	0	28

Patientes :

Sujets	< 21 U/ml	≥ 21 – <50 U/ml	≥ 50 – <100 U/ml	≥100 U/ml	*n*
Cancer ovarien	36	10	7	43	96
Affections non-malignes					
GI	5	0	1	0	6
GU	7	0	0	1	8
Autres	40	4	0	0	44
Affections malignes					
Seins	11	2	1	0	14
GI	3	2	1	0	6
GU	4	1	2	4	11
Autres	9	3	0	6	18

Des taux élevés de CA125 peuvent être associés à des endométrioses,[12] au premier trimestre de grossesse,[13] à la période menstruelle, à un cancer du pancréas, de l'estomac, du colon ou du rectum.[2]

Utiliser ces valeurs *à titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devrait 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 rares sérums rares et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en U/ml. (En l'absence de précision supplémentaire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques prélevés sur tubes sans anticoagulant, ni gel, ni activateur de la coagulation.)

Domaine de mesure : jusqu'à 500 U/ml

Le dosage peut être retracé à un standard interne, manufacturé à l'aide de matériaux et procédures de mensuration qualifiées.

Sensibilité analytique : 1 U/ml

Effet-crochet : aucun jusqu'à 80 000 U/ml

Précision : les valeurs ont été établies à partir de doublets dosés dans deux séries différentes chaque jour pendant 20 jours soit au total 40 séries et 80 doublets. (Voir le tableau « Precision ».)

Test de dilution : les échantillons ont été testés avec des taux de dilution variés. (Voir le tableau « Linearity » pour des données représentatives.)

Test de récupération: les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions CA125 (1025, 1950 et 4080 U/ml). (Voir le tableau

« Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : l'anticorps utilisé est hautement spécifique de CA125. (Voir le tableau « Specificity ».)

Bilirubine : La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

Biotine :

Niveau de test de biotine (ng/ml)	Concentration en OM-MA (CA125) (U/ml)	
	15,2	189
	Biais (%)	
5,0	7	0
9,0	14	8
19,0	22	19
32,0	20	26
100	40	26
1500	36	32

Les échantillons contenant de la biotine à une concentration de 5 ng/ml présentent un changement de résultats inférieur ou égal à 10 %. Les concentrations de biotine supérieures à cela peuvent donner des résultats faussement élevés pour les échantillons des patients.

La consommation de biotine alimentaire quotidienne recommandée chez l'adulte est de 30 µg/jour. Les suppléments alimentaires en vente libre conseillés pour améliorer la santé des cheveux, de la peau et des ongles peuvent contenir 5 à 100 mg de biotine, et il est recommandé de prendre plusieurs comprimés par jour. Des études pharmacocinétiques réalisées sur des adultes en bonne santé ont démontré que, chez les sujets qui ingèrent des doses de 5 mg, 10 mg et 20 mg de biotine, les concentrations de biotine sérique peuvent atteindre 73 ng/ml, 141 ng/ml et 355 ng/ml, respectivement.[17] Chez les sujets qui prennent jusqu'à 300 mg de biotine par jour, les niveaux de biotine plasmatique peuvent atteindre 1160 ng/ml.[18]

Hémolyse : La présence d'hémoglobine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 192 mg/dl.

Lipémie : La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 3000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

Comparaison de méthodes : le test a été comparé au test IMMULITE OM-MA (mono/poly, LKOP) sur 161 échantillons. (Intervalle de concentrations : 4,16 à 364,7 U/ml environ. Voir graphique.) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 0,97 (IML) + 0,30 U/ml
r = 0,985

Moyennes :
106 U/ml (IMMULITE 2000)
109 U/ml (IMMULITE)

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

Le Système Qualité de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. est certifié ISO 13485.

Italiano

OM-MA

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa dell'antigene CA125 nel siero, quale ausilio nel monitoraggio della risposta alla terapia per pazienti con cancro dell'epitelio ovarico, e nella rilevazione del cancro ovarico residuo in pazienti sottoposti a terapia di prima linea e considerati idonei per un secondo ciclo di terapie.

Codice: **L2KOP2** (200 test)

Codice del Test: **OV** Colore: **acqua**

I livelli di antigene CA125 in un dato campione determinati secondo dosaggi di produttori diversi possono variare a causa delle differenze nelle procedure utilizzate e nella specificità dei reagenti. I risultati comunicati dal laboratorio al medico devono includere le caratteristiche del dosaggio utilizzato per rilevare i livelli di antigene CA125. I valori ottenuti con dosaggi diversi non possono essere interscambiati. Prima di cambiare dosaggio, il laboratorio deve confermare i valori di base per i pazienti monitorati in serie.

Riassunto e spiegazione del Test

Il determinante del CA125 è stato originariamente identificato attraverso un anticorpo monoclonale, selezionato per la sua reattività con un linea cellulare di una paziente affetta da cistadenocarcinoma papillare sieroso dell'ovaio. Si è riscontrato che questo anticorpo era reattivo alle linee cellulari derivate da carcinomi dell'epitelio ovarico, ma non a tessuti non maligni, incluso l'ovaio normale di pazienti adulte e quello fetale.[1,2]

Benchè la natura precisa del determinante del CA125 rimanga non chiara, si concorda che la molecola è una glicoproteina ad elevato peso molecolare (1000 kDa) con una quantità più piccola di carboidrati rispetto alle mucine.[2] E' noto che esistono più forme molecolari di CA125.[3,4]

I neoplasmi dell'epitelio ovarico hanno origine da un unico strato di cellule che coprono l'ovaio. Le cellule dell'epitelio hanno un'elevata capacità proliferativa poiché riparano la superficie ovarica dopo l'ovulazione. La cessazione dell'ovulazione in seguito ad assunzione di contraccettivi orali, gravidanza ed allattamento possono ridurre il rischio di cancro all'ovaio. Le forme maligne dell'ovaio sono state associate ad una varietà di fattori di crescita dei peptidi, degli oncogeni e dei geni oncosoppressori.[5] Secondo un recente studio che comprende circa il 10% della popolazione statunitense, più del 48% dei carcinomi ovarici può essere riscontrato in donne di 65 anni e più anziane, piuttosto che in donne più giovani. L'incidenza aumenta con l'età, e raggiunge un picco di 54 ogni 100 000 donne tra i 75 ed i 79 anni.[6]

Le misurazioni di CA125 prima e dopo chirurgia citoriduttiva del cancro ovarico, si sono rivelate utili nel prevedere la possibilità che persistano residui tessuti maligni.[11]

L'IMMULITE 2000 OM-MA utilizza un anticorpo monoclonale di topo per la cattura ed un anticorpo policlonale di coniglio per l'individuazione dell'antigene CA125. L'anticorpo monoclonale è stato ottenuto attraverso immunizzazione con una mucina umana preparata da un pool di pazienti con cancro dell'epitelio ovarico. L'anticorpo monoclonale che forma la base per la specificità del kit, riconosce un determinante proteico ripetitivo espresso nel core proteico dell'antigene CA125.

Questo anticorpo ha una specificità per un epitopo che si sovrappone, o che è molto vicino a quello legato dall'anticorpo monoclonale M11. L'anticorpo monoclonale M11 viene incorporato in molti immunodosaggi del CA125 disponibili in commercio.[15] L'anticorpo policlonale è purificato con affinità vs. l'antigene CA125, ottenendo un reagente che reagisce con molti epitopi su questo antigene.

Principio del procedimento

IMMULITE 2000 OM-MA è un dosaggio immunometrico in chemiluminescenza in fase solida a doppio sito.

Cicli d'incubazione: 2 × 30 minuti

Raccolta del Campione

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

I campioni emolizzati posson 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 OM-MA non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette.

Volume richiesto: 50 µL di siero

Conservazione: 1 giorno a 2–8°C o 2 mesi a –20°C.[14]

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

Reagenti: Conservare i reagenti a 2–8°C. Eliminare in conformità alle leggi vigenti.

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati dal sangue umano sono stati testati con esito negativo per la sifilide, gli anticorpi anti-HIV 1 e 2, l'Antigene di Superficie dell'Epatite B e 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.

I risultati comunicati dal laboratorio al medico devono includere le caratteristiche del dosaggio utilizzato per rilevare i livelli di antigene CA125. I valori ottenuti con dosaggi diversi non possono essere interscambiati.

Materiali Forniti

I componenti costituiscono un unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

Contenitore di Sferette OM-MA (L2OP12)
Con codice a barre. 200 sferette coattate con un anticorpo monoclonale murino anti-CA125. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KOP2: 1 confezione

Porta Reagente OM-MA (L2OPA2)
Con codice a barre.11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con un anticorpo policlonale di coniglio anti-CA125 in un tampone, con conservanti; 6,5 mL di un tampone, con conservanti. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KOP2: 1 Porta Reagente

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.

Calibratori OM-MA (LOPL, LOPH)
Due flaconi (Basso ed Alto), ciascuno con 3 mL contenenti CA125 in una matrice/ tampone proteica non umana, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KOP2: 1 set

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste sulle provette delle aliquote (fornite co il kit) cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore.

Componenti del kit forniti separatamente

Diluente dell'OM-MA (L2OPZ)
Per la diluizione interna dei campioni ad elevata concentrazione. 25 mL di una matrice/tampone non umana a base proteica priva di CA125, concentrata e (pronta all'uso). Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

Vengono Fornite Le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare una etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm, cosicchè il codice a barre possa essere letto dal lettore

interno
L2OPZ: 3 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 × 100 mm) per Diluente del Campione
L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluente del Campione

Materiali Richiesti
Acqua distillata o deionizzata; Provette; controlli

Procedura del Dosaggio

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 4 settimane

Controllo di Qualità: Per la frequenza del controllo di qualità seguire le normative in vigore o i requisiti di accreditamento.

Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (alto e basso) di CA125.

Siemens Healthcare Diagnostics consiglia l'utilizzo di materiali di controllo della qualità disponibili in commercio con almeno 2 livelli (bassi e alti). Un livello soddisfacente di prestazioni si raggiunge quando i valori dell'analita ottenuti rientrano nei range di accettabilità del Controllo per il sistema o nei range stabiliti all'interno del laboratorio attraverso un programma appropriato di valutazione del controllo di qualità.

Interpretazione dei risultati

Un risultato di 21 U/mL o superiore con il dosaggio IMMULITE 2000 OM-MA è considerato elevato ed un risultato inferiore a 21 U/mL è considerato normale.

Gli utilizzatori devono essere a conoscenza che un risultato maggiore o uguale a 21 U/mL può essere riscontrato in individui sani ed in pazienti con patologie non maligne, come pericardite, cirrosi, necrosi epatica grave, endometriosi (Fasi II-IV), primo trimestre di gravidanza, cisti ovariche, o in pazienti con patologie maligne non ovariche, quali carcinoma uterino, epatoma, adenocarcinoma pancreatico, e cancro ai polmoni.

Un risultato inferiore a 21 U/mL non indica certamente l'assenza del cancro ovarico residuo o recidivo poiché alcuni pazienti con evidenza istopatologica di un carcinoma ovarico potrebbero presentare livelli di CA125 inferiori a 21 U/mL.

L'unità di misura (U/mL) adottata dall'IMMULITE 2000 OM-MA è arbitraria. Poichè non ci sono unità di riferimento, gli utenti **non devono** effettuare paragoni quantitativi tra i diversi metodi per la misurazione del CA125. I risultati comunicati dal laboratorio al medico devono includere le caratteristiche del dosaggio utilizzato per rilevare i livelli di antigene CA125. I valori ottenuti con dosaggi diversi non possono essere interscambiati.

Valori Attesi

In base al suo rapporto con il dosaggio IMMULITE OM-MA (Vedi Comparazione di Metodi), si può prevedere che il dosaggio abbia essenzialmente gli stessi range di riferimento.

Sono stati inclusi 64 campioni di siero di donne (range di età tra i 17 gli 86 anni) presumibilmente sane provenienti da due centri clinici. Questi campioni sono stati analizzati con il dosaggio IMMULITE OM-MA. I risultati variavano da 1,9 a 16,3 U/mL, con un valore mediano di 4,8 U/mL. Il grafico mostra la distribuzione dei valori di CA125. (Vedi il grafico "Expected Values".)

Lo stesso studio ha incluso anche pazienti adulte affette da cancro ovarico, patologie non maligne (gastrointestinali, genitourinarie ed altre patologie non maligne) e patologie maligne (cancro alla mammella, cancro gastrintestinale, cancro

genitourinario ed altri tipi di cancro). Le distribuzioni di queste pazienti, come quelle degli uomini e donne sani inclusi negli studi, vengono presentate di seguito per i range di misurazione del CA125 indicati.

Soggetti Sani:

Soggetti sani	< 21 U/mL	≥ 21 – <50 U/mL	≥ 50 – <100 U/mL	≥100 U/mL	*n*
Donne	64	0	0	0	64
< 50 anni	50	0	0	0	50
≥ 50 anni	14	0	0	0	14
Uomini	28	0	0	0	28

Pazienti:

Pazienti	< 21 U/mL	≥ 21 – <50 U/mL	≥ 50 – <100 U/mL	≥100 U/mL	*n*
Carcinoma ovarico	36	10	7	43	96
Patologie Non Maligne					
GI	5	0	1	0	6
GU	7	0	0	1	8
Altre condizioni	40	4	0	0	44
Patologie Maligne					
Mammella	11	2	1	0	14
GI	3	2	1	0	6
GU	4	1	2	4	11
Altre condizioni	9	3	0	6	18

Livelli elevati di CA125 possono essere associati all'endometriosi,[12] al primo trimestre di gravidanza,[13] al ciclo menstruale, ed al carcinoma del pancreas, dello stomaco, del colon o del retto.[2]

Considerare questi limiti soltanto come *linee guida*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire le proprie gamme di riferimento.

Limiti

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi *in vitro*. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34: 27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedi tavole e grafici per dati *rappresentativi*. I risultati sono indicati in U/mL. (Laddove non diversamente specificato, tutti i dati sono stati generati su campioni di siero raccolti in provette senza gel separatore o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.)

Range di calibrazione: Fino a 500 U/mL

Il dosaggio è standardizzato verso uno standard interno preparato usato con materiali e secondo procedure di qualità.

Sensibilità analitica: 1 U/mL

Effetto Gancio per Dosi Elevate: Nessuno fino a 80 000 U/mL

Precisione: Sono stati dosati campioni in doppio in 20 giorni, due sedute al giorno, per un totale di 40 sedute ed 80 replicati. (Vedi la Tabella "Precision".)

Linearità: Sono stati dosati campioni in varie forme diluite. (Vedi la Tabella "Linearity" per dati rappresentantivi.)

Recupero: Sono stati dosati campioni 1:19 ai quali sono state aggiunte tre soluzioni di CA125 (1025, 1950 e 4080 U/mL). (Vedi la Tabella "Recovery" per dati rappresentantivi.)

Specificità: L'anticorpo è molto specifico per il CA125. (Vedere la tabella "Specificity")

Bilirubina: La presenza di bilirubina in concentrazioni fino a 200 mg/L non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Biotina:

Livello di test biotina (ng/mL)	Concentrazione OM-MA (CA125) (U/mL)	
	15,2	189
	Bias (%)	
5,0	7	0
9,0	14	8
19,0	22	19
32,0	20	26
100	40	26
1500	36	32

I campioni che contengono biotina a una concentrazione di 5 ng/mL dimostrano una variazione nei risultati inferiore o pari al 10%. Concentrazioni di biotina superiori a questa potrebbero portare a risultati falsamente elevati nei campioni dei pazienti.

L'assunzione giornaliera raccomandata di un adulto di biotina è 30 µg/die. Gli integratori alimentari da banco promossi per la salute dei capelli, della pelle e delle unghie possono contenere 5–100 mg di biotina, con raccomandazioni relative all'assunzione di più compresse al giorno. Studi di farmacocinetica su adulti sani hanno dimostrato che, nei soggetti che assumono 5 mg, 10 mg e 20 mg di biotina, le concentrazioni sieriche di biotina possono raggiungere rispettivamente fino a 73 ng/mL, 141 ng/mL e 355 ng/mL.[17] I soggetti che assumono fino a 300 mg di biotina al giorno possono presentare livelli plasmatici di biotina fino a 1160 ng/mL.[18]

Emolisi: La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 192 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Lipemia: La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 3000 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Confronto di metodi: Il dosaggio è stato comparato al dosaggio IMMULITE OM-MA (mono/poli, LKOP) in 161 campioni di pazienti. (Range di concentrazione: da 4,16 a 364,7 U/mL circa. Vedere il grafico.) Mediante regressione lineare:

(IML 2000) = 0,97 (IML) + 0,30 U/mL
r = 0,985

Valore Medio:
106 U/mL (IMMULITE 2000)
109 U/mL (IMMULITE)

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore Nazionale.

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

OM-MA

Utilização: Para uso diagnóstico *in vitro* com os Analisadores dos Sistemas IMMULITE 2000 — para a medição quantitativa de antigénios de CA125 no soro, assim como auxiliar na monitorização da resposta à terapia para doentes com cancro do ovário epitelial, e na detecção do cancro do ovário residual em doentes que se submeteram à terapia de primeira linha e seriam considerados para procedimentos de diagnósticos para uma segunda opção.

Números de catálogo:
L2KOP2 (200 testes)

Código do teste: **OV** Cor: **Verde água**

Os níveis de antígénios de CA125 numa determinada amostra com doseamento de diferentes fabricantes podem variar devido a diferenças nos métodos de doseamento e especificidade do reagente. Os resultados reportados pelo laboratório para o médico devem incluir a identificação do doseamento usado para medir os níveis do antigénios de CA125. Os valores obtidos com diferentes doseamentos não podem ser usados em permutação. Antes de mudar os doseamentos, o laboratório deve confirmar os valores de linha base para pacientes que estão a ser monitorizados ao longo do tempo.

Sumário e explicação do teste

O determinante do CA125 foi originalmente identificada por um anticorpo monoclonal selecionado para reactividade com a linha de células de um paciente com cistadenocarcinoma papilário seroso do ovário. Este anticorpo foi estabelecido para reagir com as linhas celulares derivadas de carcinomas epiteliais do ovário, mas não com tecidos não malignos, incluíndo o ovário normal adulto e fetal[1,2].

Apesar da natureza precisa do determinante do CA125 permanecer obscura, existe uma concordância de que a molécula é uma glicoproteína com elevado peso molecular (1000 kDa) com menor quantidade de carbohidratos do que mucinos[2]. Há alguma evidência de que existe mais do que uma forma de molécula de CA125[3,4].

Os neoplasmas epiteliais do ovário têm origem numa camáda de células única que reveste o ovário. Estas células epiteliais têm uma alta capacidade proliferativa refazendo a superfície do ovário após a ovulação. A supressão da ovulação através de contraceptivos orais, da gravidez e da lactação pode, por consequência, reduzir o risco de carcinoma no ovário. A doenças malignas do ovário tem sido associada a uma variedade de factores de crescimento, de oncogénios e genes supressores de tumores. De acordo com um estudo recente, abrangendo aproximadamente 10% da população americana, existe uma prevalência de 48%, em casos de carcinoma do ovário, nas mulheres com idade superior a 65 anos, em relação a mulheres jovens. A incidência aumenta com a idade, atingindo o pico de 54 em cada 100 000 mulheres num grupo etário de 75–79 anos[6].

O doseamento do CA125 antes e após cirurgia citoreductiva para o carcinoma do ovário, tem vindo a demonstrar a probabilidade de o paciente ficar com doença residual[11].

O kit de OM-MA do IMMULITE 2000 usa um anticorpo murino monoclonal para a captura e detecção do antigénio CA125. O anticorpo foi estabelecido por imunização com mucino humano, preparado de uma “pool” de pacientes com carcinoma epitelial do ovário. O anticorpo reconhece uma proteína determinante replicada, identificada na proteína núcleo do antigénio do CA125.

Este anticorpo tem especificidade para um epítope que se sobrepõem a, ou que se liga pelo anticorpo monoclonal M11. O monoclonal M11 é incorporado em muitos imuno-ensaios de CA125 disponíveis comercialmente[15]. O anticorpo policlonal é purificado por afinidade contra o antigénio CA125, resultando num reagente que reage com epítopes múltiplos neste antigénio.

Princípio do procedimento

A OM-MA IMMULITE 2000 é um ensaio imunométrico em fase sólida quimioluminescente de duas voltas.

Ciclos de incubação: 2 × 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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 OM-MA não foram ainda testados com todas as possiveis variações originadas pelos tipos de tubos.

Volume de amostra: 50 µL de soro

Estabilidade: 1 dia a 2–8°C, ou 2 meses a –20°C[14].

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com a legislação aplicável.

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, com concentrações menores que 0,1 g/dL, foi adicionada a certos componentes como conservante. Ao eliminar, dilua com grandes volumes de água para evitar a acumulação de azidas metálicas explosivas em canalizações de chumbo e cobre.

Substrato quimioluminescente: Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula do substrato).

Água: Use água destilada ou desionizada.

Os resultados reportados pelo laboratório para o médico devem incluir a identificação do doseamento usado para medir os níveis do antigénios CA125. Os valores obtidos com diferentes doseamentos não podem ser usados em permutação.

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 OM-MA (L2OP12)
Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com anticorpo monoclonal murino anti-CA125. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KOP2: 1 embalagem

Embalagem de Reagente de OM-MA (L2OPA2)
Com código de barras. Contém 11,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de bezerro bovino) conjugada a anticorpo policlonal de coelho anti-CA125 tamponizada, com conservante e 6,5 mL de um tampão, com conservante. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KOP2: 1 embalagem

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 OM-MA (LOPL, LOPH)
Contém dois frascos (nível alto e baixo) cada um contendo 3 mL de CA125 numa matriz de proteínas/tampão não humana, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KOP2: 1 conjunto

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas da alíquota apropriadas (fornecidas com o "kit") em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Diluente de amostra para OM-MA (L2OPZ)
Para a diluição no aparelho de amostras de doentes. 25 mL de concentrado pronto a usar, constituido por uma matriz em tampão de proteina não humana, livre de CA125. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2OPZ: 3 etiquetas

L2SUBM: Substrato quiomioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Kit de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)
L2ZT: 250 Tubos de diluente da amostra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

Também necessário
Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos

Procedimento de doseamento

Consultar o Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000 relativamente aos procedimentos de preparação, diluição, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Ter em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000.

Intervalo entre ajustes aconselhável:
4 semanas

Amostras de controlo de qualidade:
Observe os regulamentos governamentais ou os requisitos de acreditação quanto à frequência do controlo de qualidade.

Utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de CA125.

A Siemens Healthcare Diagnostics recomenda a utilização de materiais de controlo de qualidade comercialmente disponíveis com pelo menos 2 níveis (baixo e alto). É alcançado um nível de desempenho satisfatório quando os valores dos analitos obtidos estiverem dentro dos Limites de Controlo Aceitáveis para o sistema ou dentro dos limites estabelecidos e determinados pelo regime de controlo de qualidade laboratorial interno adequado.

Interpretação dos resultados

Um resultado de OM-MA no IMMULITE 2000 de 21 U/mL ou superior é considerado elevado e o resultado de menos de 21 U/mL é considerado normal.

Os utilizadores devem estar conscientes de que um resultado superior ou igual a 21 U/mL pode ser encontrado numa pequena percentagem de indivíduos saudáveis e em doentes com condições não malignas, como pericardite, cirrose, necrose hepática severa, endometriose (estadios II-IV), gravidez no primeiro trimestre, e quistos ováricos, ou em doentes com malignidade não ováricas, como carcinoma uterino, hepatoma, adenomacarcinoma pancreático e cancro pulmonar.

Um resultado abaixo de 21 U/mL não indica necessariamente a ausência de cancro do ovário recorrente ou residual porque alguns doentes com evidência histopatológica de carcinoma ovárico podem ter medidas de CA125 abaixo de 21 U/mL.

A unidade (U/mL) adoptada pelo IMMULITE 2000 OM-MA é arbitrária. Uma vez que não existe unidade de referência padrão, os utilizadores **não devem** fazer comparações quantitativas entre diferentes métodos de medida de CA125. Os resultados reportados pelo laboratório para o médico devem incluir a identificação do doseamento usado para medir os níveis do antigénio CA125. Os valores obtidos com diferentes doseamentos não podem ser usados em permutação.

Valores de Referência

Baseado na sua relação com o OM-MA IMMULITE (ver comparação de métodos), pode-se esperar que o doseamento tenha valores de referência idênticos.

Sessenta e quatro amostras de soro de adultos do sexo feminino (faixa etária entre 17 e 86 anos) em boa saúde aparente foram incluídos nos dois locais clínicos. Foram testados por doseamento IMMULITE OM-MA. Os resultados variaram de 1,9 a 16,3 U/mL, com uma média de 4,8 U/mL. O seguinte gráfico mostra a distribuição dos valores de CA125. (Consulte o gráfico de "Valores de Referência".)

Os mesmos estudos também incluíram doentes do sexo feminino adultas com cancro do ovário, não maligno, gastrointestinal, genitourinário, e outras doenças não malignas e condições malignas, (cancro da mama, gastrointestinal, genitourinário e outros). As distribuições desses doentes, assim como indivíduos saudáveis do sexo masculino e feminino incluídos nos estudos, são mostrados abaixo para as faixas de medida de CA125 indicadas.

Sujeitos saudáveis:

Sujeitos saudáveis	< 21 U/mL	≥ 21 – <50 U/mL	≥ 50 – <100 U/mL	≥100 U/mL	*n*
Feminino	64	0	0	0	64
< 50 anos	50	0	0	0	50
≥ 50 anos	14	0	0	0	14
Masculino	28	0	0	0	28

Doentes:

Doentes	< 21 U/mL	≥ 21 – <50 U/mL	≥ 50 – <100 U/mL	≥100 U/mL	*n*
Cancro do Ovário	36	10	7	43	96
Condições não malignas					
GI	5	0	1	0	6
GU	7	0	0	1	8
Outros	40	4	0	0	44
Condições malignas					
Mama	11	2	1	0	14
GI	3	2	1	0	6
GU	4	1	2	4	11
Outros	9	3	0	6	18

Níveis elevados de CA125 podem estar associados com endometriose[12], primeiro trimestre de gravidez[13], menstruação, cancro do pâncreas, estômago, cólon ou rectal[2].

Considere estes limites apenas como *directrizes*. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores de referência.

Limitações

Os anticorpos heterófilos no soro humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes no ensaio, causando interferência com os imunoensaios *in vitro*. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34: 27-33.] Amostras de doentes expostas em rotina a produtos ou soros de animais podem demonstrar este tipo de interferência, potencial causador de resultados anómalos. Estes reagentes foram formulados para minimizar o risco de interferência, contudo podem ocorrer potenciais interacções entre soros (raros) e componentes do teste. Para fins de diagnóstico, os resultados obtidos neste ensaio devem ser sempre analisados em combinação com o exame clínico, história de medicação do doente e outros achados que possam correlacionar.

Características do Ensaio

Consulte Tabelas e Gráficos para dados *representativos* do desempenho do doseamento. Os resultados são apresentados em U/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.)

Calibração: Até 500 U/mL

O ensaio é monotorizado com padrão interno feito com materiais qualificados e procedimentos de medição.

Sensibilidade Analítica: 1 U/mL

Efeito Hook de Alta Dose:
Nenhum até 80 000 U/mL

Precisão: As amostras foram doseadas em duplicado durante 20 dias, 2 ensaios por dia, perfazendo um total de 40 ensaios e 80 réplicas. (Ver a tabela de "Precisão".)

Linearidade: As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. (Ver a tabela de "Linearidade" para dados representativos.)

Recuperação: Às amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 com três soluções CA125 (1025, 1950 e 4080 U/mL) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recuperação" para dados representativos.)

Especificidade: O doseamento é específico para CA125 (Ver tabela de "Especificidade".)

Bilirrubina: A presença de bilirrubina em concentrações até 200 mg/L não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Biotina:

Nível de Teste de Biotina (ng/mL)	Concentração de OM-MA (CA125) (U/mL)	
	15,2	189
	Bias (%)	
5,0	7	0
9,0	14	8
19,0	22	19
32,0	20	26
100	40	26
1500	36	32

As amostras que contenham biotina a uma concentração de 5 ng/mL demonstram uma alteração igual ou inferior a 10% nos resultados. Concentrações de biotina superiores a esta poderão originar resultados falsamente elevados para as amostras de doentes.

A ingestão diária dietética recomendada de biotina para adultos é de 30 µg/dia. Os suplementos dietéticos de venda livre promovidos para uso na saúde dos cabelos, pele e unhas podem conter de 5 a 100 mg de biotina, com recomendações para tomar vários comprimidos por dia. Estudos farmacocinéticos em adultos saudáveis mostraram que, em indivíduos que ingerem 5 mg, 10 mg e 20 mg de biotina, as concentrações séricas de biotina podem atingir até 73 ng/mL, 141 ng/mL e 355 ng/mL, respetivamente.[17] Os indivíduos que ingerem até 300 mg de biotina por dia podem ter níveis plasmáticos de biotina tão altos quanto 1160 ng/mL.[18]

Hemolise: A presença de hemoglobina em concentrações até 192 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipemia: A presença de triglicéridos em concentrações até 3000 mg/dL não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Comparação de Métodos:
O doseamento foi comparado ao IMMULITE OM-MA (mono/poly, LKOP) em 161 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 4,16 a 364,7 U/mL. Consulte o gráfico.)
Regressão linear:
(IML 2000) = 0,97 (IML) + 0,30 U/mL
r = 0,985

Médias:
106 U/mL (IMMULITE 2000)
109 U/mL (IMMULITE)

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE is a trademark of Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2017-2020 Siemens Healthcare Diagnostics. All rights reserved.

Origin: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Llanberis, Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

2020-08-06

PIL2KOP – 16

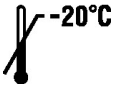
cc#CC-00192-LLB

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol	Definition
IVD	**En:** *In vitro* diagnostic medical device **De:** Medizinisches Gerät zur *In-vitro* Diagnose **Es:** Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro* **Fr:** Dispositif médical de diagnostic *in vitro* **It:** Dispositivo medico per diagnostica *in vitro* **Pt:** Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
REF	**En:** Catalog Number **De:** Katalognummer **Es:** Número de referencia **Fr:** Numéro de référence catalogue **It:** Codice catalogo **Pt:** Número de catálogo
	**En:** Manufacturer **De:** Hersteller **Es:** Fabricante **Fr:** Fabricant **It:** Produttore **Pt:** Fabricante
EC REP	**En:** Authorized Representative in the European Community **De:** Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union **Es:** Representante autorizado en la Unión Europea **Fr:** Représentant agréé pour l'Union européenne **It:** Rappresentante autorizzato nella Comunità europea **Pt:** Representante Autorizado na Comunidade Europeia
CE	**En:** CE Mark **De:** CE-Kennzeichen **Es:** Marca CE **Fr:** Marque CE **It:** Marchio CE **Pt:** Marca CE
CE 0088	**En:** CE Mark with identification number of notified body **De:** CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle **Es:** Marca CE con número de identificación del organismo notificado **Fr:** Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié **It:** Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato **Pt:** Marca CE, com número de identificação do organismo notificado

Symbol	Definition
	**En:** Consult instructions for use **De:** Bedienungshinweise beachten **Es:** Consulte las instrucciones de uso **Fr:** Consulter le mode d'emploi **It:** Consultare le istruzioni per l'uso **Pt:** Consulte as instruções de utilização
	**En:** Caution! Potential Biohazard **De:** Vorsicht! Biologisches Risikomaterial **Es:** ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial **Fr:** Avertissement ! Risque biologique potentiel **It:** Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico **Pt:** Atenção! Potenciais Riscos Biológicos
	**En:** Temperature limitation (2–8°C) **De:** Temperaturgrenze (2–8°C) **Es:** Limitación de temperatura (2–8°C) **Fr:** Limites de température (2–8°C) **It:** Limiti di temperatura (2–8°C) **Pt:** Limites de temperatura (2–8°C)
	**En:** Upper limit of temperature (≤ -20°C) **De:** Obere Temperaturgrenze (≤ -20°C) **Es:** Límite superior de temperatura (≤ -20°C) **Fr:** Limite supérieure de température (≤ -20°C) **It:** Limite superiore di temperatura (≤ -20°C) **Pt:** Limite máximo de temperatura (≤ -20°C)
	**En:** Lower limit of temperature (≥ 2°C) **De:** Mindesttemperatur (≥ 2°C) **Es:** Límite inferior de temperatura (≥ 2°C) **Fr:** Limite inférieure de température (≥ 2°C) **It:** Limite inferiore di temperatura (≥ 2°C) **Pt:** Limite mínimo de temperatura (≥ 2°C)

Symbol Definition



En: Do not freeze (> 0°C)
De: Nicht einfrieren (> 0°C)
Es: No congelar (> 0°C)
Fr: Ne pas congeler (> 0°C)
It: Non congelare (> 0°C)
Pt: Não congelar (> 0°C)



En: Do not reuse
De: Nicht zur Wiederverwendung
Es: No reutilizar
Fr: Ne pas réutiliser
It: Non riutilizzare
Pt: Não reutilizar



En: Keep away from sunlight
De: Vor Sonneneinstrahlung schützen
Es: Proteger de la luz solar
Fr: Maintenir hors de portée de la lumière du soleil
It: Non esporre alla luce del sole
Pt: Manter afastado da luz solar

LOT

En: Batch code
De: Chargenbezeichnung
Es: Número de lote
Fr: Numéro de code du lot
It: Codice lotto
Pt: Código de lote



En: Contains sufficient for (n) tests
De: Es reicht für (n) Tests
Es: Contiene suficiente para (n) pruebas
Fr: Contient du matériel suffisant pour (n) tests
It: Contiene materiale sufficiente per (n) test
Pt: Contém o suficiente para (n) testes

2008-01

En: Date format (year-month)
De: Datumsformat (Jahr-Monat)
Es: Formato de fecha (año-mes)
Fr: Format de la date (année-mois)
It: Formato data (anno-mese)
Pt: Formato de data (ano-mês)



En: Use by
De: Verwendbar bis
Es: Fecha de caducidad
Fr: A utiliser avant
It: Usare entro
Pt: Usar até



En: Harmful
De: Gesundheitsschädlich
Es: Nocivo
Fr: Nocif
It: Nocivo
Pt: Nocivo

Symbol Definition



En: Corrosive
De: Ätzend
Es: Corrosivo
Fr: Corrosif
It: Corrosivo
Pt: Corrosivo



En: Toxic
De: Giftig
Es: Tóxico
Fr: Toxique
It: Tossico
Pt: Tóxico



En: Dangerous for the environment
De: Umweltgefährlich
Es: Peligroso para el medio ambiente
Fr: Dangereux pour l'environnement
It: Pericoloso per l'ambiente
Pt: Perigoso para o ambiente

BEAD PACK

En: Bead Pack
De: Kugel-Container
Es: Cartucho de bolas
Fr: Cartouche de billes
It: Contenitore di biglie
Pt: Embalagem de esferas

TEST UNIT

En: Test Unit
De: Testeinheit
Es: Unidades de análisis
Fr: Unité de test
It: Test Unit
Pt: Unidades de Teste

REAG WEDGE
REAG WEDGE A
REAG WEDGE B
REAG WEDGE D

En: Reagent Wedge
De: Reagenzbehälter
Es: Vial de reactivo
Fr: Cartouche à réactif
It: Porta Reagente
Pt: Embalagem de Reagente

ADJUSTOR

En: Adjustor
De: Kalibrator
Es: Ajustador
Fr: Ajusteur
It: Calibrator
Pt: Ajuste

ADJUSTOR L

En: Adjustor, low
De: Kalibrator, niedrig
Es: Ajustador, bajo
Fr: Ajusteur, bas
It: Calibrator, basso
Pt: Ajuste, baixo

Symbol	Definition
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL CONTROL 1 CONTROL 2 CONTROL 3	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo

Symbol	Definition
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

Progesterone

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 Progesterone

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the quantitative measurement of progesterone in serum, as an aid in the diagnosis and treatment of disorders of the ovaries or placenta.

Catalog Numbers: **L2KPW2** (200 tests), **L2KPW6** (600 tests)

Test Code: **PRG**
Color Code: **Light Green**

Summary and Explanation

Progesterone is a steroid hormone which plays an important role in the preparation for and maintenance of pregnancy. It is synthesized from cholesterol via pregnenolone — then rapidly metabolized to pregnanediol, for the most part, in the liver.[1,8,12] The ovary and placenta are the major production sites; but a small amount is also synthesized by the adrenal cortex in both men and women.

Circulating progesterone levels, which are characteristically low during the follicular phase, increase sharply during the luteal phase of menstrual cycles, reaching a maximum some 5 to 10 days after the midcycle LH peak.[11] Unless pregnancy occurs, a steep decline to follicular levels sets in about 4 days before the next menstrual period. This pattern constitutes the rationale behind the well-established use of serum progesterone measurements as a simple and reliable method for ovulation detection.[2,3,15]

There is growing literature on luteal phase defects.[4,7,10,16,17] Daily progesterone levels are considered the most accurate means for documenting a defective luteal phase.[4,7] However, some investigators have found that three samples or even a single sample[13,17] (if well timed) can provide valuable information on the adequacy of the luteal phase.

Measurements of serum progesterone have also been used to check the effectiveness of ovulation induction,[15] to monitor progesterone replacement therapy[15] and to detect and evaluate patients at risk for abortion during the early weeks of pregnancy.[5,6,14] On the other hand, although progesterone levels increase throughout pregnancy, they are not considered a suitable means for monitoring fetal well-being during the third trimester.[8]

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 Progesterone is a solid-phase, competitive chemiluminescent enzyme immunoassay.

Incubation Cycles: 1 × 30 minutes

Specimen Collection

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 manufactures may yield differing values, depending on tube materials and additives, including gel or physical barriers, clot activators and/or anticoagulants. IMMULITE 2000 Progesterone 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.

EDTA: Because EDTA would have a significant effect on results, it should not be used as an anticoagulant.

Gel Barrier Tubes: Time-dependent decreases in progesterone levels have been reported when serum samples are collected and stored in gel barrier tubes.[19,20,21]

Lipemia: Gross lipemia has been shown to cause a decrease in the apparent progesterone concentration. The use of an ultracentrifuge is recommended to clear lipemic samples.

Volume Required: 25 µL serum

Storage: 7 days at 2–8°C, or 3 months at –20°C.[18]

Dilution of High Samples: All samples expected to have levels above the assay's calibration range should be diluted on-board.

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.



CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD
Contains human source material. Each donation of human blood or blood component was tested by FDA-approved methods for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) as well as for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis C virus (HCV). The test results were negative (not repeatedly reactive). No test offers complete assurance that these or other infectious agents are absent; this material should be handled using good laboratory practices and universal precautions.[26-28]

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.

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.

Progesterone Bead Pack (L2PW12)
With barcode. 200 beads, coated with polyclonal rabbit anti-progesterone. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KPW2: 1 pack **L2KPW6:** 3 packs

Progesterone Reagent Wedge (L2PWA2)
With barcode. 21 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to progesterone, in buffer, dispensed equally into chambers A and B. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KPW2: 1 wedge **L2KPW6:** 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.

Progesterone Adjustors (LPWL, LPWH)
Two vials (Low and High), 3 mL each, of progesterone in processed human serum, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KPW2: 1 set **L2KPW6:** 2 sets

Before making an adjustment, place the appropriate Aliquot Labels (supplied with the kit) on test tubes so that the barcodes can be read by the on-board reader.

Kit Components Supplied Separately

Multi-Diluent 1 (L2M1Z)
For the on-board dilution of high samples. One vial of concentrated (ready-to-use) processed, normal human serum, containing undetectable to low levels of progesterone, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2M1Z: 25 mL

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.
L2M1Z: 3 labels

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate
L2PWSM: Probe Wash
L2KPM: Probe Cleaning Kit
LRXT: Reaction Tubes (disposable)
L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

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 Systems Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual for preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval: 2 weeks

Quality Control Samples: Follow government regulations or accreditation requirements for quality control frequency.

Use controls or serum pools with at least two levels (low and high) of progesterone.

Siemens Healthcare Diagnostics recommends the use of commercially available quality control materials with at least 2 levels (low and high). A satisfactory level of performance is achieved when the analyte values obtained are within the Acceptable Control Range for the system, or within an established range determined by an appropriate internal laboratory quality control scheme.

Expected Values

A multi-national study involving women in apparent good health (age: 16–44 years), who volunteered to have blood samples drawn, on a daily basis, throughout one complete ovulatory cycle,[23] yielded the following results.

Progesterone, ng/mL

Ovulatory Cycles	*n**	Median	Central 95%
Follicular Phase	27 (382)	0.47	ND – 1.13
Midfollicular Days 5 to 11	27 (186)	0.43	ND – 0.98
Midcycle	27 (27)	1.06	0.48 – 1.72
Luteal Phase	27 (323)	8.9	0.95 – 21
Midluteal, Days 7 to 8 of Luteal Phase	27 (54)	13.1	6.0 – 24

*Number of subjects (total number of results)

Progesterone, nmol/L

Ovulatory Cycles	*n**	Median	Central 95%
Follicular Phase	27 (382)	1.5	ND – 3.6
Midfollicular Days 5 to 11	27 (186)	1.4	ND – 3.1
Midcycle	27 (27)	3.4	1.5 – 5.5
Luteal Phase	27 (323)	28	3.0 – 68
Midluteal, Days 7 to 8 of Luteal Phase	27 (54)	42	19 – 76

*Number of subjects (total number of results)

See Menstrual Cycle Graph (see Tables and Graphs).

Another study yielded the following results.

Mass Units (ng/mL)	Median	Absolute Range	*n*
Males:	0.52	0.27 – 0.90	63
Females:			
Follicular Phase	0.67	0.33 – 1.2	29
Luteal Phase	4.8	0.72 – 17.8	29
Post-menopausal	0.36	ND – 1.0	34
Oral Contraceptives	0.70	0.34 – 0.92	19
Pregnant Females:			
First Trimester	22.2	9.3 – 33.2	28
Second Trimester	35.4	29.5 – 50.0	10
Third Trimester	102	83.1 – 160	8

ND: not detectable

S.I. Units (nmol/L)	Median	Absolute Range	*n*
Males:	1.7	0.86 – 2.9	63
Females:			
Follicular Phase	2.1	1.0 – 3.8	29
Luteal Phase	15.3	2.3 – 56.6	29
Post-menopausal	1.1	ND – 3.2	34
Oral Contraceptives	2.2	1.1 – 2.9	19
Pregnant Females:			
First Trimester	70.6	29.6 – 106	28
Second Trimester	113	93.8 – 159	10
Third Trimester	324	264 – 509	8

ND: not detectable

In pregnancy, the general tendency is for values to increase. There is considerable interpersonal variation in progesterone values, particularly in groups associated with elevated levels. (Note that measurement of progesterone levels is generally considered unsuitable for monitoring fetal well-being in the later weeks of pregnancy.[8])

A cross-sectional study of pediatric fertility values at a “wellness” clinic in the southwestern United States yielded the following results.

		Progesterone, ng/mL		
Group	Age (yr)	*n*	Median	Central 95%
Females	Cord	27	570	465 – 755
	0.1 – 0.4	24	1.2	0.25 – 17
	0.5 – 1	19	0.8	0.2 – 1.6
	1.1 – 9	38	0.4	ND – 1.4
Males	Cord	27	520	345 – 650
	0.1 – 0.4	33	1.5	0.3 – 14
	0.5 – 1	14	0.8	ND – 2
	1.1 – 9	42	0.4	ND – 1.3
Combined	Cord	54	550	350 – 750
	0.1 – 0.4	57	1.5	0.25 – 17
	0.5 – 1	33	0.8	ND – 2
	1.1 – 9	80	0.4	ND – 1.3

ND: nondetectable

		Progesterone, nmol/L		
Group	Age (yr)	*n*	Median	Central 95%
Females	Cord	27	1813	1479 – 2401
	0.1 – 0.4	24	3.8	0.8 – 54
	0.5 – 1	19	2.5	0.6 – 5.1
	1.1 – 9	38	1.3	ND – 4.5
Males	Cord	27	1654	1097 – 2067
	0.1 – 0.4	33	4.8	1.0 – 45
	0.5 – 1	14	2.5	ND – 6.4
	1.1 – 9	42	1.3	ND – 4.1
Combined	Cord	54	1749	1113 – 2385
	0.1 – 0.4	57	4.8	0.8 – 54
	0.5 – 1	33	2.5	ND – 6.4
	1.1 – 9	80	1.3	ND – 4.1

ND: nondetectable

Pediatric: Reference intervals for the pediatric population (children and adolescents) were established for the IMMULITE Progesterone assay in accordance with CLSI guideline EP28-A3C.[24] Samples were collected prospectively from apparently healthy pediatric subjects, using predefined inclusion criteria. Reference values were generated for subpopulations based on age and Tanner stage subgroups based on physiological development. The study was designed to establish reference values for females within each age or Tanner stage subgroup. The subject’s Tanner stage was assessed based on pubic hair and genitalia/breast development. The scale proposed by Neinstein and Kaufman was used for the determination of the Tanner stages. [25]

The reference intervals and Tanner values are based on the central 90% (5th and 95th percentiles). Where sample sizes were insufficient to calculate the 5th or 95th percentile, the minimum or maximum observed values are presented in the Reference Intervals tables.

IMMULITE 2000/2000 XPi Progesterone Pediatric Reference Intervals

Age (Years)	*n*	Median	Range
		ng/mL	
12	38	< 0.2	< 0.2 – 1.4
13 – 21	127	0.4	< 0.2 – 10.0
Age (Years)	*n*	Median	Range
		nmol/L	
12	38	< 0.6	< 0.6 – 4.3
13 – 21	127	1.2	< 0.6 – 31.7

IMMULITE 2000/2000 XPi Progesterone Pediatric Reference Intervals by Tanner Stage

Tanner Stage	*n*	Median	Range
		ng/mL	
1	1	Not Applicable	
2	18	< 0.2	< 0.2* – > 6.3†
3	49	0.2	< 0.2 – 8.3
4	45	0.3	< 0.2 – 7.0
5	52	0.6	< 0.2 – 11.3
Tanner Stage	*n*	Median	Range
		nmol/L	
1	1	Not Applicable	
2	18	< 0.6	< 0.6* – > 20.1†
3	49	0.6	< 0.6 – 26.3
4	45	0.9	< 0.6 – 22.2
5	52	2.0	< 0.6 – 35.8

* Value presented is the minimum reportable value observed; insufficient sample size to calculate a 5th percentile limit.

† Value presented is the maximum value observed; insufficient sample size to calculate a 95th percentile limit.

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.

The supplement Dehydroepiandrosterone (DHEA) may cause falsely elevated progesterone results in immunoassays. At an initial concentration of Progesterone of 1.16 ng/mL, an 80.2% change in concentration was observed at the supraphysiologic level of DHEAS (DHEA metabolite) of 20,000 ng/mL. For patients being treated with DHEA, an alternate method that is not expected to show cross reactivity to DHEAS (DHEA metabolite), such as Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS), should be used.

With the advent of new steroid based medications (analogues) with similar chemical structures to progesterone, there is the possibility of cross-reactivity and falsely elevated results. For diagnostic purposes, the results should always be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examination and other findings. If the progesterone results are inconsistent with clinical evidence, additional testing is suggested to confirm the result.

Performance Data

See Tables and Graphs for data *representative* of the assay's performance. Results are expressed as 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 × 3.18 → nmol/L

Calibration Range: 0.2 to 40 ng/mL (0.6 to 127 nmol/L)

The assay is traceable to an internal standard manufactured using qualified materials and measurement procedures.

Analytical Sensitivity: 0.1 ng/mL (0.3 nmol/L)

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 progesterone solutions (25, 100 and 200 ng/mL) were assayed. (See “Recovery” table for representative data.)

Specificity: The assay is highly specific for progesterone (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 interferes with the assay, causing a depression of values. (See “Lipemia” table.)

Alternate Sample Type: To assess the effect of alternate sample types, blood was collected from 19 volunteers into plain glass and plastic serum tubes.

(Serum Plastic) = 1.03 (Serum Glass) – 0.06 ng/mL
r = 0.997

Means:
11.2 ng/mL (Serum Glass)
11.5 ng/mL (Serum Plastic)

In another study, blood was collected from 20 volunteers into plain, heparinized, EDTA and Becton Dickinson SST® vacutainer glass tubes. Equal volumes of the matched samples were spiked with various concentrations of progesterone, to obtain values throughout the calibration range of the assay, and then assayed by the IMMULITE 2000 Progesterone procedure.

(Heparin) = 0.84 (Serum) + 0.4 ng/mL
r = 0.974

(EDTA) = 2.21 (Serum) + 4.8 ng/mL
r = 0.893

(SST) = 1.04 (Plain Tubes) + 0.02 ng/mL
r = 0.987

Means:
9.6 ng/mL (Serum)
8.5 ng/mL (Heparin)
21.2 ng/mL (EDTA)
10.2 ng/mL (SST)

Method Comparison 1: The assay was compared to Coat-A-Count® Progesterone on 162 patient samples. (Concentration range: approximately 0.2 to 40 ng/mL. See Method Comparison 1 graph .)
By linear regression:

(IML 2000) = 0.71 (CAC) + 0.33 ng/mL
r = 0.979

Means:
8.2 ng/mL (IMMULITE 2000)
11.1 ng/mL (Coat-A-Count)

Method Comparison 2: IMMULITE 2000 Progesterone (L2KPW) was also compared to IMMULITE/IMMULITE 1000 Progesterone (LKPG) on 182 patient samples (Concentration range: approximately 0.2 to 20 ng/mL. See “Method Comparison 2” graph.)
By linear regression:

(IML 2000 – L2KPW) = 0.79 (IML – LKPG)
+ 0.82 ng/mL
r = 0.969

Means:
5.9 ng/mL (IMMULITE 2000 – L2KPW)
5.5 ng/mL (IMMULITE – LKPG)

References

1) Aufrere MB, Benson H. Progesterone: an overview and recent advances. J Pharm Sci 1976; 65:783-800. 2) Bauman J. Basal body temperature: unreliable method of ovulation detection. Fertil Steril 1981; 36:729-33. 3) Brown JB. Timing of ovulation. Med J Austral 1977; ii: 780-83. 4) Gautray JP, et al. Clinical investigation of the menstrual cycle: clinical, endometrial and endocrine aspects of luteal defect. Fertil Steril 1981; 35:296-303. 5) Hensleigh PA, Fainstat T. Corpus luteum dysfunction: serum progesterone levels in diagnosis and assessment of therapy for recurrent and threatened abortion. Fertil Steril 1979; 32:396-9. 6) Hernandez Horta JL, et al. Direct evidence of luteal insufficiency in women with habitual abortion. Obstet Gynecol 1977; 49:705-8. 7) Jones G. Luteal phase defects. In: Behrman SJ, Kistner RW, editors. Progress in infertility. Boston: Little & Brown, 2nd Edition, 1975: 299-324. 8) Klopper A, Fuchs F. Progestagens. In: Fuchs F, Klopper A, editors. Endocrinology of pregnancy. Hagerstown: Harper & Row, 1977: 99-122. 9) Lehmann F, Bettendorf G. The endocrine shift from a normal cycle to anovulation. In: Insler V, Bettendorf G, editors. Advances in diagnosis and treatment of infertility. Amsterdam: Elsevier/North Holland, 1981: 105-13. 10) March CM. Luteal phase defects. In: Mishell DR, Davajan V, editors. Reproductive endocrinology, infertility and contraception. Philadelphia: F.A. Davis, 1979: 469-76. 11) March CM, Goebelsmann U,

Nakamura RM and Mishell DR. Roles of estradiol and progesterone in eliciting the midcycle luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone surges. J Clin Endocrinol Metab 1979; 49:507-13. 12) Progesterone (Rochester: Bioeducational Publications, 1981). A BIO-ED slide/seminar educational program.
13) Radwanska E, et al. Plasma progesterone and oestradiol estimations in the diagnosis and treatment of luteal insufficiency in menstruating infertile women. Acta Eur Fertil 1976; 7:39-47.
14) Radwanska E, et al. Plasma progesterone levels in normal and abnormal early human pregnancy. Fertil Steril 1978; 30:398-402.
15) Radwanska E, et al. Single midluteal progesterone assay in the management of ovulatory infertility. J Reprod Med 1981; 26:85-89.
16) Sheehan KL, Casper RF, Yen SSC. Luteal phase defects induced by an agonist of luteinizing hormone-releasing factor: a model for fertility control. Science 1982; 215:170-72. 17) Wentz A. Pathophysiology of luteal phase inadequacy. In: Tozzini RI, Reeves G and Pineda RL, editors. Endocrine physiopathology of the ovary. Amsterdam: Elsevier/North Holland, 1980, 257-74.
18) Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz textbook of clinical chemistry. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994. 19) Hilborn S, Krahn J. Effect of time of exposure to gel-barrier tubes on results for progesterone and some other endocrine tests. Clin Chem 1987; 33:204. 20) Reimers TJ, et al. Effect of storage times and temperature on T3, T4, LH, prolactin, insulin, cortisol, and progesterone concentrations in blood samples from cows. J Anim Sci 1983; 57:683-691.
21) Smith RL. Effect of serum-separating gels on progesterone assays. Clin Chem 1985; 31:1239.
22) 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.
23) Vankrieken L. IMMULITE reproductive hormone assays: multicenter reference range data. Los Angeles: Diagnostic Products Corporation, 2000. Document No. ZB157-D.
24) Clinical and Laboratory Standards Institute. *Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Third Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010. CLSI Guideline EP28-A3C. 25) Neinstein LS and Kaufman FR, Chapter 1: Normal Physical Growth and Development in Neinstein L.S. *Adolescent Health Care: A Practical Guide*, 4th ed. 26) Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. MMWR, 1988;37:377–82, 387–8. 27) Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3. 28) Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030.

Technical Assistance

Contact your National Distributor.

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

Precision (ng/mL)

		Within-Run[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	0.46	0.08	17.4%	0.10	21.7%
2	1.36	0.12	8.8%	0.17	12.5%
3	2.54	0.26	10.2%	0.27	10.6%
4	3.92	0.38	9.7%	0.41	10.5%
5	11.6	0.92	7.9%	1.23	10.6%
6	14.8	1.04	7.0%	1.49	10.1%
7	21.3	1.49	7.0%	2.03	9.5%

Linearity (ng/mL)

	Dilution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	8 in 8[5]	4.56	—	—
	4 in 8	2.35	2.28	103%
	2 in 8	1.28	1.14	112%
	1 in 8	0.70	0.57	123%
2	8 in 8	9.74	—	—
	4 in 8	4.86	4.87	100%
	2 in 8	2.54	2.44	104%
	1 in 8	1.36	1.22	111%
3	8 in 8	11.5	—	—
	4 in 8	6.48	5.75	113%
	2 in 8	3.38	2.88	117%
	1 in 8	1.71	1.44	119%
4	8 in 8	17.3	—	—
	4 in 8	9.78	8.66	113%
	2 in 8	4.60	4.33	106%
	1 in 8	2.43	2.16	113%
5	8 in 8	19.3	—	—
	4 in 8	11.3	9.65	117%
	2 in 8	5.83	4.83	121%
	1 in 8	3.24	2.41	134%
6	8 in 8	30.6	—	—
	4 in 8	13.2	15.3	86%
	2 in 8	7.02	7.65	92%
	1 in 8	3.43	3.83	90%

Recovery (ng/mL)

	Solution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	—	0.26	—	—
	A	1.09	1.50	73%
	B	3.86	5.25	74%
	C	8.53	10.3	83%
2	—	0.50	—	—
	A	1.66	1.73	96%
	B	4.65	5.48	85%
	C	9.96	10.5	95%
3	—	2.30	—	—
	A	3.13	3.44	91%
	B	5.79	7.19	81%
	C	10.8	12.2	89%
4	—	4.20	—	—
	A	4.86	5.24	93%
	B	8.38	8.99	93%
	C	12.5	14.0	89%
5	—	8.21	—	—
	A	8.75	9.05	97%
	B	12.3	12.8	96^
	C	15.8	17.8	89%
6	—	12.7	—	—
	A	13.0	13.3	98%
	B	16.5	17.1	96%
	C	17.9	22.1	81%
7	—	14.8	—	—
	A	15.5	15.3	101%
	B	21.1	19.0	111%
	C	24.4	24.0	102%

Specificity

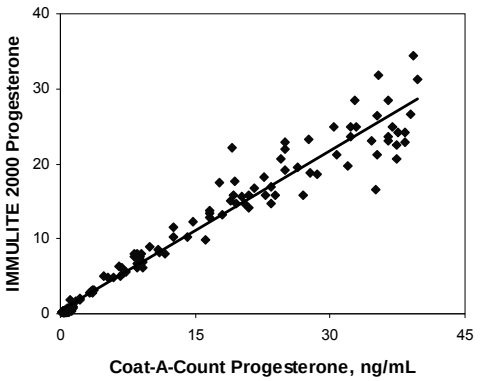
Compound[1]	Amount Added[2] (ng/mL)	Apparent[3] ng/mL	% Cross reactivity[4]
Androstenedione	3000	2.28	0.076%
Corticosterone	3000	12.5	0.417%
Cortisol	50,000	1.7	0.003%
Danazol	10,000	ND	ND
DHEA sulfate*	5000	0.31	0.01%
11-Deoxy-corticosterone	250	4.55	1.82%
11-Deoxycortisol	250	ND	ND
Estradiol	10,000	ND	ND
17α-Hydroxy-progesterone	500	2.22	0.444%
Medroxy-progesterone	10,000	2.9	0.029%
Pregnenolone	1000	0.47	0.047%
Testosterone	1000	1.19	0.119%

ND: Not detectable[5]
*See Limitation Section[6]

Lipemia

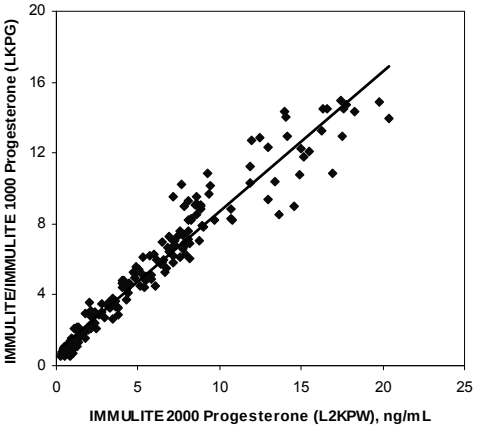
	Triglycerides Added mg/dL[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E
1	—	1.46		
	1500	1.00	1.35	74%
	3000	0.74	1.24	60%
2	—	3.58		
	1500	2.16	3.31	65%
	3000	1.51	3.04	50%
3	—	7.17		
	1500	4.24	6.63	64%
	3000	3.15	6.09	52%
4	—	8.72		
	1500	4.62	8.07	57%
	3000	3.29	7.41	44%
5	—	15.1		
	1500	1.36	8.11	17%
	3000	5.77	12.8	45%
6	—	12.9		
	1500	7.63	11.9	64%
	3000	5.49	11.0	50%

Method Comparison 1



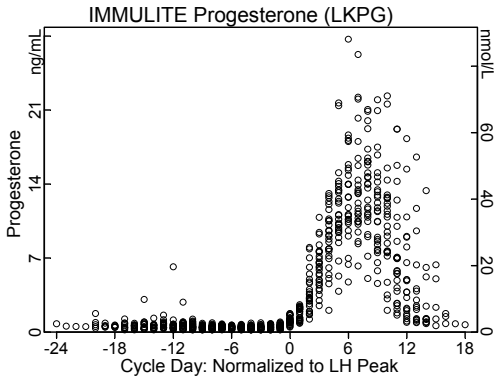
(IML 2000) = 0.71 (CAC) + 0.33 ng/mL
r = 0.979

Method Comparison 2



(IML 2000 – L2KPW) = 0.79 (IML – LKPG)
+ 0.82 ng/mL
r = 0.969

Menstrual Cycle Plot



Deutsch. **Precision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]SD (Standardbereich), [5]CV (Variationskoeffizient). **Linearity**: [1]Verdünnung, [2]Beobachtet (B), [3]Erwartet (E), [4]% B/E, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Lösung, [2]Beobachtet (B), [3]Erwartet (E), [4]% B/E. **Specificity**: [1]Verbindung, [2]zugesetzte Menge, [3]Ausgewiesene Konzentration, [4]% Kreuzreaktivität, [5]NN: Nicht nachweisbar, [6]Siehe Abschnitt „Grenzen der Methode“. **Lipemia:** [1]zugesetzte Menge, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E). **Method Comparison.** Progesterone: Progesteron. **Menstrual Cycle Graph.** Cycle Day: Normalized to LH Peak: Zyklustag: bezogen auf LH-Peak.

Español. **Precision**: [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV. **Linearity**: [1] Dilución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 en 8. **Recovery**: [1]Solución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Specificity**: [1]Compuesto, [2]Cantidad añadida, [3]Concentración aparente, [4]% Reacción cruzada, [5]ND: no detectable, [6]Véase la sección Limitación. **Lipemia:** [1]Cantidad añadida, [2]Observado (O), [3]Esperado (E). **Method Comparison.** Progesterone: Progesterona. **Menstrual Cycle Graph.** Cycle Day: Normalized to LH Peak: Día del Ciclo: referido al pico de LH

Français. **Precision**: [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]SD, [5]CV. **Linearity**: [1]Dilution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A, [5] 16 dans 16. **Recovery**: [1]Solution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A. **Specificity**: [1]Composé, [2]ajouté, [3]Concentration apparente, [4]Réaction croisée%. [5]ND: non détectable, [6]Voir la section Limites. **Lipemia:** [1]ajouté, [2]Observé (O), [3]Attendu (A). **Method Comparison**: Progesterone: Progestérone.

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity**: [1]Diluizione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Soluzione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A. **Specificity**: [1]Composto, [2]quantità aggiunta, [3]Concentrazione apparente, [4]Percentuale di Crossreattività, [5]ND: non determinabile, [6]Consultare la sezione Limiti. **Lipemia:** [1]quantità aggiunta, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A). **Method Comparison.** Progesterone: Progesterone. **Menstrual Cycle Graph.** Cycle Day: Normalized to LH Peak: Ciclo Giornaliero: Normalizzato al Picco di LH.

Português. **Precision**: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação. **Linearity**: [1]Diluição, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 em 8. **Recovery**: [1]Solução, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Specificity**: [1]Composto, [2]Quantidade adicionada, [3]Apparent Concentration, [4]Percentagem de reacção cruzada, [5]ND: não detectável, [6]Consulte a secção Limitações. **Lipemia:** [1]quantità aggiunta, [2]Observado (O), [3]Esperado (E). **Method Comparison.** Progesterone: Progesterona. **Menstrual Cycle Graph.** Cycle Day: Normalized to LH Peak: Dia do Ciclo: Normalizado até Pico de LH.

Deutsch

Progesteron

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme — zur quantitativen Bestimmung von Progesteron im Serum, zur Untersuchung und Therapiekontrolle von ovarialen und plazentaren Störungen.

Artikelnummern: **L2KPW2** (200 Tests), **L2KPW6** (600 Tests)

Testcode: **PRG** Farbe: **hellgrün**

Klinische Relevanz

Progesteron ist ein Steroidhormon mit einer wichtigen Rolle in der Vorbereitung und Aufrechterhaltung der Schwangerschaft. Es wird synthetisiert aus Cholesterol über Pregnenolon. Metabolisiert wird es zum größten Teil in der Leber zu Pregnandiol.[1,8,12] Das Ovar und die Plazenta sind die Hauptproduktionsorte, ein kleiner Teil wird aber auch in der Nebennierenrinde produziert.

Die zirkulierenden Progesteronspiegel, die charakteristischerweise während der Follikelphase niedrig sind, steigen während der Lutealphase des Zyklus stark an. Das Maximum wird ca. 5–10 Tage nach dem mittzyklischen LH-Gipfel erreicht.[11] Sofern keine Schwangerschaft eintritt, kommt es zu einer Reduktion der Serumspiegel auf das Niveau der Follikelphase ca. 4 Tage vor Beginn des nächsten Zyklus. Dieses Muster ist der Grund für den weitverbreiteten Gebrauch von Serum-Progesteron Messungen als eine einfache und zuverlässige Methode zur Ovulationsbestimmung.[2,3,15]

Es gibt eine zunehmende Zahl von Veröffentlichungen über Lutealphasendefekte.[4,7,10,16,17] Die tägliche Bestimmung der Progesteronwerte gilt als die genaueste Möglichkeit eine gestörte Lutealphase zu dokumentieren.[4,7] Aber schon die Bestimmung von drei Proben oder sogar nur einer Probe[13,17] (zum günstigsten Zeitpunkt) kann eine

aussagekräftige Information über die Korrektheit der Lutealphase liefern.

Messungen des Serum-Progesterons werden auch genutzt, um die Effektivität[15] einer Ovulationsstimulierung zu beurteilen, Progesteronssubstitutionstherapien[15] zu monitoren und mögliche Risikopatientinnen für Aborte in der frühen Phase der Schwangerschaft zu erkennen und zu überwachen.[5,6,14] Andererseits wird die Progesteron-Konzentration trotz ansteigender Werte im Verlauf der Schwangerschaft, nicht als aussagekräftiger Parameter zur Entwicklungskontrolle des Fötus im 3 Trimester betrachtet.[8]

Methodik

Der Progesteron – IMMULITE 2000 Test ist ein kompetitiver Festphasen-, Chemilumineszenz-Immunoassay.

Inkubationszyklen: 1 × 30 Minuten

Probengewinnung

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 Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln 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. Der IMMULITE 2000 Progesteron Assay ist nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

EDTA: würde die Resultate erheblich verfälschen und sollte daher nicht als Antikoagulanz verwendet werden.

Gelbarriere-Röhrchen: Bei Abnahme und Aufbewahrung in Gelbarriere-Röhrchen kann eine zeitabhängige Abnahme des Progesteronspiegels beobachtet werden.[19,20,21]

Lipämie: Stark lipämische Seren können zu fehlerhaften Messwerten führen. Der Einsatz einer Ultrazentrifuge wird zur Klärung von lipämischen Proben empfohlen.

Erforderliche Menge: 25 µl Serum

Lagerung: 7 Tage bei 2–8°C oder 3 Monate bei –20°C.[18]

Verdünnen bei hohen Konzentrationen: Alle Proben, bei denen mit über dem Messbereich des Assay liegenden Konzentrationen zu rechnen ist, sollten on-board verdünnt werden.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *in vitro*-Diagnostik.



VORSICHT! BIOLOGISCHES RISIKOMATERIAL
Enthält Material humanen Ursprungs. Alle Blutspenden oder Blutkomponenten humanen Ursprungs wurden mittels FDA-genehmigter Methoden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die HI-Viren Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2) sowie von Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und Antikörpern gegen den Hepatitis C-Virus (HCV) getestet. Die Testergebnisse waren negativ (nicht wiederholt reaktiv). Da durch keinen Test das Vorhandensein dieser oder anderer infektiöser Stoffe vollständig ausgeschlossen werden kann, sind alle Materialen mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und gemäß der allgemein anerkannten guten Laborpraxis zu handhaben.[26–28]

VORSICHT: Dieser Testkit enthält Material tierischen Ursprungs und sollte als ein potenzieller Träger und Überträger von Krankheiten behandelt werden.

Reagenzien: Bei 2–8°C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Bestimmten Komponenten wurde Natriumazid (< 0,1 g/dl) hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu verhindern, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

Chemilumineszenz-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.

Progesteron Kugel-Container (L2PW12)
Der barcodierte Kugel-Container enthält. 200 Kugeln, beschichtet mit Progesteron-Antikörpern (polyklonal, Hase). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KPW2: 1 Container
L2KPW2: 3 Container

Progesteron - Reagenzbehälter (L2PWA2)
Der barcodierte Reagenz-Container enthält 21 ml alkalische Phospatase (Kalb) konjugiert mit Progesteron, in einem Puffer, zu gleichen Mengen in den Kammern A und B. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KPW2: 1 Behälter **L2KPW6:** 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.

Progesteron Kalibratoren (LPWL, LPWH)
Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) à 3 ml, mit Progesteron in prozessiertem Humanserum mit Konservierungsmittel. 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KPW2: 1 Set **L2KPW6:** 2 Sets

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Röhrchen kleben, so daß die Barcodes vom Barcodereader des Systems gelesen werden können.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

Multi-Diluent 1 (L2M1Z)
Zur on-board Verdünnung von Proben hoher Konzentration. Ein Fläschchen konzentriertes (gebrauchsfertig) prozessiertes, normales Humanserum, mit nicht-nachweisbarem Gehalt an Progesteron (mit Konservierungsmittel). 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2M1Z: 25 ml

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2M1Z: 3 Etiketten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße
L2ZT: 250 Probenverdünnungs-röhrchen
L2ZC: 250 Deckel für die Probenverdünnungsröhrchen

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Röhrchen; Kontrollen

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Verdünnung, Kalibration, Test- und Qualitätskontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
2 Wochen

Qualitätskontrollproben: Jeweils gültige gesetzlichen Bestimmungen oder Akkreditierungsanforderungen sind bei der Festlegung der Intervalle zur Durchführung der Qualitätskontrollen zu berücksichtigen.

Kontrollen oder Poolseren mit Progesteron in mindestens zwei Konzentrationen (niedrig und hoch) verwenden.

Siemens Healthcare Diagnostics empfiehlt die Verwendung von kommerziell verfügbaren Qualitätskontrollen in mindestens 2 Konzentrationen (niedrig und hoch). Der Systembetrieb gilt dann als zufriedenstellend, wenn die Analytwerte innerhalb des für das System zulässigen Kontrollbereichs oder des für die laborinternen Qualitätskontrollverfahren festgelegten zulässigen Bereichs liegen.

Referenzwerte

Die Referenzbereiche wurden in einer internationalen Multicenter-Studie bestimmt. Es wurden täglich während des gesamten Ovulationszykluses Proben von offensichtlich gesunden Frauen (Alter 16–44 Jahre) entnommen.[23]

Progesteron, ng/ml

Ovulationszyklen	*n**	Median	95% Bereich
Follikelphase	27 (382)	0,47	ND – 1,13
Follikel-Mittelphase, 5. bis 11. Tag	27 (186)	0,43	ND – 0,98
Mittelzyklus	27 (27)	1,06	0,48 – 1,72
Lutealphase	27 (323)	8,9	0,95 – 21
Luteal-Mittelphase, 7. bis 8. Tag der Lutealphase	27 (54)	13,1	6,0 – 24

*Anzahl der Versuchpersonen (Gesamtzahl der Ergebnisse)

Progesteron, nmol/l

Ovulationszyklen	*n**	Median	95%-Bereich
Follikelphase	27 (382)	1,5	ND – 3,6
Follikel-Mittelphase, 5. bis 11. Tag	27 (186)	1,4	ND – 3,1
Mittelzyklus	27 (27)	3,4	1,5 – 5,5
Lutealphase	27 (323)	28	3,0 – 68
Luteal-Mittelphase, 7. bis 8. Tag der Lutealphase	27 (54)	42	19 – 76

*Anzahl der Versuchpersonen (Gesamtzahl der Ergebnisse)

Siehe "Menstrual Cycle Graph" (Graphik des Mestruationszykluses) in "Tables and Graphs" (Tabellen und graphischen.)

In einer weiteren Studie wurde folgende Referenzwerte ermittelt.

Masseneinheit (ng/ml)	Median	Absolutwerte	*n*
Männer	0,52	0,27 – 0,90	63
Frauen			
Follikelphase	0,67	0,33 – 1,2	29
Lutealphase	4,8	0,72 – 17,8	29
Postmenopause*	0,36	ND – 1,0	34
Orale Kontrazeptiva	0,70	0,34 – 0,92	19
Schwangere Frauen			
1. Trimester	22,2	9,3 – 33,2	28
2. Trimester	35,4	29,5 – 50,0	10
3. Trimester	102	83,1 – 160	8

NN: Nicht nachweisbar

S.I. Units (nmol/l)	Median	Absolutwerte	*n*
Männer	1,7	0,86 – 2,9	63
Frauen			
Follikelphase	2,1	1,0 – 3,8	29
Lutealphase	15,3	2,3 – 56,6	29
Postmenopause*	1,1	ND – 3,2	34
Orale Kontrazeptiva	2,2	1,1 – 2,9	19
Schwangere Frauen			
1. Trimester	70,6	29,6 – 106	28
2. Trimester	113	93,8 – 159	10
3. Trimester	324	264 – 509	8

NN: Nicht nachweisbar

In jedem Falle besteht eine beträchtliche individuelle Variation in den gefundenen Progesteronwerten, besonders in Gruppen mit einem erhöhten Spiegel. (Bitte beachten Sie, daß die Messung der Progesteronspiegel in den späten Wochen der Schwangerschaft allgemein als nicht sinnvoll erachtet wird.[8])

In einer repräsentativen Querschnittsstudie mit pädiatrischen Fertilitätswerten in einer „Wellnes-Klinik“ im Südwesten der USA wurden folgende Ergebnisse gefunden.

		Progesteron, ng/ml		
Gruppe	Alter (Jahre)	*n*	Median	95%-Bereich
Frauen	Nabelschnur	27	570	465 – 755
	0,1 – 0,4	24	1,2	0,25 – 17
	0,5 – 1	19	0,8	0,2 – 1,6
	1,1 – 9	38	0,4	NN – 1,4
Männer	Nabelschnur	27	520	345 – 650
	0,1 – 0,4	33	1,5	0,3 – 14
	0,5 – 1	14	0,8	NN – 2
	1,1 – 9	42	0,4	NN – 1,3
Kombiniert	Nabelschnur	54	550	350 – 750
	0,1 – 0,4	57	1,5	0,25 – 17
	0,5 – 1	33	0,8	NN – 2
	1,1 – 9	80	0,4	NN – 1,3

NN: Nicht nachweisbar

		Progesteron, nmol/l		
Gruppe	Alter (Jahre)	*n*	Median	95%-Bereich
Frauen	Nabelschnur	27	1813	1479 – 2401
	0,1 – 0,4	24	3,8	0,8 – 54
	0,5 – 1	19	2,5	0,6 – 5,1
	1,1 – 9	38	1,3	NN – 4,5
Männer	Nabelschnur	27	1654	1097 – 2067
	0,1 – 0,4	33	4,8	1,0 – 45
	0,5 – 1	14	2,5	NN – 6,4
	1,1 – 9	42	1,3	NN – 4,1
Kombiniert	Nabelschnur	54	1749	1113 – 2385
	0,1 – 0,4	57	4,8	0,8 – 54
	0,5 – 1	33	2,5	NN – 6,4
	1,1 – 9	80	1,3	NN – 4,1

NN: Nicht nachweisbar

Kinder: Die pädiatrischen Referenzbereiche (Kinder und Jugendliche) wurden in Übereinstimmung mit der CLSI-Richtlinie EP28-A3C für den IMMULITE Progesteron-Test festgelegt.[24] Dazu wurden Proben prospektiv von augenscheinlich gesunden pädiatrischen Probanden entnommen, die unter Anwendung vordefinierter Einschlusskriterien ausgewählt wurden. Referenzwerte für Unterpopulationen wurden basierend auf dem Alter und den Tanner-Stadium-Untergruppen ermittelt, die wiederum auf der physiologischen Entwicklung basierten. Die Studie diente der Ermittlung von Referenzwerten für weibliche Probanden jeden Alters bzw. aus jeder Tanner-Stadium-Untergruppe. Das Tanner-Stadium der Probanden wurde anhand der Schambehaarung sowie des Entwicklungsstadiums der Genitalien bzw. der Brust beurteilt. Zur Bestimmung des Tanner-Stadiums wurde die von Neinstein und Kaufmann vorgeschlagene Skala verwendet.[25]

Die Referenzbereiche und die Tanner-Werte basieren auf einem Mittelwert von 90% (5. und 95. Perzentil). Bei Probenmengen, die für eine Berechnung des 5. und 95. Perzentils unzureichend waren, werden die beobachteten Mindest- und Höchstwerte entsprechend den

Referenzbereichen in den Tabellen aufgeführt.

Pädiatrische Referenzbereiche für IMMULITE 2000/2000 XPi Progesteron

Alter (in Jahren)	*n*	Median	Bereich
		ng/ml	
12	38	< 0,2	< 0,2 – 1,4
13 – 21	127	0,4	< 0,2 – 10,0
Alter (in Jahren)	*n*	Median	Bereich
		nmol/l	
12	38	< 0,6	< 0,6 – 4,3
13 – 21	127	1,2	< 0,6 – 31,7

Pädiatrische Referenzbereiche für IMMULITE 2000/2000 XPi Progesteron nach Tanner-Stadium

Tanner-Stadium	*n*	Median	Bereich
		ng/ml	
1	1	Nicht zutreffend	
2	18	< 0,2	< 0,2* – > 6,3†
3	49	0,2	< 0,2 – 8,3
4	45	0,3	< 0,2 – 7,0
5	52	0,6	< 0,2 – 11,3
Tanner-Stadium	*n*	Median	Bereich
		nmol/l	
1	1	Nicht zutreffend	
2	18	< 0,6	< 0,6* – > 20,1†
3	49	0,6	< 0,6 – 26,3
4	45	0,9	< 0,6 – 22,2
5	52	2,0	< 0,6 – 35,8

* Der angegebene Wert entspricht dem beobachteten messbaren Mindestwert; Stichprobe zur Berechnung des 5. Perzentils unzureichend.

† Der angegebene Wert entspricht dem beobachteten messbaren Höchstwert; Stichprobe zur Berechnung des 95. Perzentils unzureichend.

Betrachten Sie diese Grenzwerte nur als *Richtlinien*. Jedes Labor sollte eigene Referenzbereiche ermitteln.

Grenzen der Methode

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.

Bei einer Hormon-Ersatztherapie mit Dehydroepiandrosteron (DHEA) kann es zu falsch erhöhten Progesteronergebnissen in Immunoassays kommen. Bei einer anfänglichen Progesteronkonzentration von 1,16 ng/ml wurde eine 80,2%ige Änderung der Konzentration bei dem supraphysiologischen DHEAS-Spiegel (DHEA-Metabolit) von 20.000 ng/ml beobachtet. Wenn Patienten mit DHEA behandelt werden, sollte eine alternative Methode verwendet werden, bei der keine Kreuzreaktivität mit DHEAS (DHEA-Metabolit) erwartet wird, etwa die Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie (LC-MS).

Aufgrund der Einführung neuer steroidbasierter Arzneimittel (Analoga), die ähnliche chemische Strukturen wie Progesteron aufweisen, besteht die Möglichkeit einer Kreuzreaktivität, verbunden mit falsch erhöhten Ergebnissen. Für diagnostische Zwecke sollte das Ergebnis des Tests stets unter Berücksichtigung der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderer Ergebnisse bewertet werden. Stimmen die Progesteronergebnisse nicht mit der klinischen Evidenz überein, sollten Sie zur Bestätigung der Ergebnisse weitere Tests durchführen.

Leistungsdaten

Siehe Tabellen und Grafiken mit repräsentativen Daten für den Assay. Die Ergebnisse sind in ng/ml angegeben. (Sofern nicht anders angegeben, wurden hierfür Serumproben in Röhrchen ohne Geltrennung und Gerinnungshilfen eingesetzt.)

Umrechnungsfaktor:
ng/ml × 3,18 → nmol/l

Messbereich: 0,2 bis 40 ng/ml
(0,6 bis 127 nmol/l)

Die Methode ist rückführbar auf einen internen Standard, der mittels qualifizierter Materialien und Messmethoden hergestellt wurde.

Analytische Sensitivität: 0,1 ng/ml
(0,3 nmol/l)

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: Proben wurden mit drei Progesteronlösungen im Verhältnis von 1:19 (25, 100 und 200 ng/ml) versetzt. (Siehe Tabelle "Recovery" für repräsentative Daten.)

Spezifität: Der Assay ist hochspezifisch für Progesteron. (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: Kann eine Erniedrigung der Werte verursachen. (Siehe Tabelle "Lipämie".)

Alternativer Probentyp: Um den Effekt verschiedener Probenarten abzuschätzen wurde Blut von 19 freiwilligen Spendern in Glas- und Plastik-Serumröhrchen ohne Zusatz gesammelt.

(Serum Plastik) = 1,03 (Serum Glas) – 0,06 ng/ml
r = 0,997

Mittelwert:
11,2 ng/ml (Serum Glas)
11,5 ng/ml (Serum Plastik)

In einer weiteren Studie wurde 20 Freiwilligen Blut entnommen. Als Abnahmegefäße wurden Serumröhrchen ohne Zusätze, Heparin-, EDTA- und Becton Dickinson SST Vakutainer Glasröhrchen verwendet. Gleiche Volumina der jeweiligen Proben wurden mit verschiedenen Konzentrationen an Progesteron versetzt, um Werte im gesamten Kalibrationsbereich zu erhalten, und die Proben anschließend mit dem IMMULITE 2000 Assay für Progesteron gemessen.

(Heparin) = 0,84 (Serum) + 0,4 ng/ml
r = 0,974

(EDTA) = 2,21 (Serum) + 4,8 ng/ml
r = 0,893

(SST) = 1,04 (einfachen Röhrchen) + 0,02 ng/ml
r = 0,987

Mittelwert:
9,6 ng/ml (Serum)
8,5 ng/ml (Heparin)
21,2 ng/ml (EDTA)
10,2 ng/ml (SST)

Methodenvergleich 1: Der Assay wurde auf der Basis von 162 Patientenproben mit dem Coat-A-Count -Progesteron verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 0,2 bis 40 ng/ml. Siehe Grafik Methodenvergleich 1.) Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 0,71 (CAC) + 0,33 ng/ml
r = 0,979

Mittelwert:
8,2 ng/ml (IMMULITE 2000)
11,1 ng/ml (Coat-A-Count)

Methodenvergleich 2: Der IMMULITE 2000 Progesteron (L2KPW) wurde unter Verwendung von 182 Patientenproben mit dem IMMULITE/ IMMULITE 1000 Progesteron (LKPG) Assay verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 0,2–20 ng/ml. Siehe Grafik "Methodenvergleich 2".) Durch lineare Regression:

(IML 2000 – L2KPW) = 0,79 (IML – LKPG)
+ 0,82 ng/ml
r = 0,969

Mittelwert:
5,9 ng/ml (IMMULITE 2000 – L2KPW)
5,5 ng/ml (IMMULITE – LKPG)

Anwendungsberatung

Wenden Sie sich an Ihren Händler vor Ort.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

Progesterona

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE 2000 — para la medición cuantitativa de progesterona en suero, como una ayuda en el diagnóstico y tratamiento de las afecciones del ovario o la placenta.

Referencia: **L2KPW2** (200 tests), **L2KPW6** (600 tests)

Código del Test: **PRG**
Código de Color: **Verde claro**

Resumen y Explicación del Test

La Progesterona es una hormona esteroidea que juega un importante papel en la preparación y mantenimiento del embarazo. Es sintetizada a partir del colesterol via pregnenolona — y rápidamente metabolizada a pregnanediol en el hígado[1,8,12]. El ovario y la placenta son los órganos que producen la mayor cantidad de progesterona; pero una pequeña parte de la progesterona sérica es producida por la corteza adrenal tanto en varones como mujeres.

Los niveles séricos de progesterona, que son característicamente bajos durante la fase folicular, se elevan considerablemente durante la fase lútea del ciclo menstrual, alcanzando su máximo nivel entre 5 y 10 días después del pico de LH a mitad del ciclo[11]. Si no se produce embarazo, sus niveles decaen hacia los valores de la fase folicular 4 días antes de comenzar el siguiente ciclo menstrual. Este patrón contribuye al uso establecido de determinaciones séricas de progesterona como un método simple y real para la detección de la ovulación[2,3,15].

Están aumentando las publicaciones sobre defectos en la fase lútea[4,7,10,16,17]. Los niveles diarios de progesterona se consideran la medida más precisa para documentar una fase lútea defectiva[4,7]. No obstante, algunos investigadores han encontrado que tres muestras o incluso una muestra única[13,17] (en fecha determinada) pueden originar una información muy certera sobre el estado de la fase lútea.

Las determinaciones de progesterona sérica se han utilizado para comprobar la efectividad de la indución a la ovulación[15], para monitorizar la terapia sustitutiva de progesterona y para detectar y evaluar los pacientes con riesgo de aborto durante las primeras semanas del embarazo[5,6,14]. Por otra parte, aunque los niveles de progesterona se incrementan durante el embarazo, no se consideran indicativos en la monitorización fetal durante el tercer trimestre del embarazo[8].

Principio del análisis

El IMMULITE 2000 Progesterona es un inmunoensayo enzimático quimioluminiscente competitivo en fase sólida.

Ciclos de incubación: 1 × 30 minutos

Recogida de la muestra

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 centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El Progesterona 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.

EDTA: Como EDTA tendría un efecto significativo en los resultados, no debe usarse como anticoagulante.

Tubos con barreras de geles: Se han informado disminuciones en los niveles de progesterona tiempo dependientes, cuando las muestras de suero son recogidas y conservadas en tubos con barreras de geles[19,20,21].

Lipemia: Se ha mostrado que la lipemia pronunciada causa una disminución de la concentración aparente de progesterona. Para limpiar las muestras lipémicas se recomienda el uso de una ultracentrífuga.

Volumen Requerido: 25 µl de suero

Conservación: 7 días a 2–8°C, o 3 meses a –20°C[18].

Dilución de muestras con niveles elevados: Todas las muestras que se prevea vayan a tener niveles que estén por encima del intervalo de calibración del ensayo deberán diluirse en el equipo automaticamente.

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.



¡PRECAUCIÓN! PELIGRO BIOLÓGICO POTENCIAL
Contiene material de origen humano. Cada donación de sangre humana o componente sanguíneo ha sido probada por métodos aprobados por la FDA con el fin de detectar la presencia de anticuerpos de los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (HIV-1) y tipo 2 (HIV-2), así como el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y el anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (HCV). Los resultados de estas pruebas fueron negativos (no repetidamente reactivos). Ninguna prueba ofrece total garantía de que en las muestras no haya estos agentes infecciosos u otros; por tanto, este material se deberá manipular conforme a las prácticas recomendables de laboratorio y las precauciones universales[26–28].

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debe manejarse como posible portador y transmisor de enfermedades.

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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las canerias de cobre y plomo.

Sustrato quimioluminiscente: evite la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

Agua: Use 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 Progesterona (L2PW12)
Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpo policlonal de conejo anti-progesterona. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KPW2: 1 cartucho
L2KPW6: 3 cartuchos

Vial de reactivo de Progesterona (L2PWA2)
Con códigos de barras. 21 ml de fosfatasa alcalina (de intestino de ternera), conjugada con progesterona en solución tampón, repartido a partes iguales en las cámaras A y B. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KPW2: 1 vial **L2KPW6:** 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 Progesterona (LPWL, LPWH)
Dos viales (bajo y alto) de cada uno con 3 ml de progesterona en suero humano procesado, con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KPW2: 1 juego **L2KPW6:** 2 juegos

Antes de hacer un ajuste, colocar las etiquetas a las alícuotas apropiadas (suministradas con el kit) sobre tubos de ensayo, de forma tal que los códigos de barras puedan ser leídos por el lector.

Componentes del kit que se suministran por separado

Multidiluyente 1 (L2M1Z)
Para la dilución de muestras de alta concentración dentro del equipo. Un vial de un concentrado de suero humano normal (listo para su uso) con niveles indetectables, progesterona, con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2M1Z: 25 ml

Se suministran etiquetas con códigos de barras para usarse con este diluyente. Antes de uso, colocar la etiqueta con el código de barras en un tubo de ensayo de 16 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2M1Z: 3 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 × 100 mm)
L2ZC: 250 Casquillos Del Tubo Del Diluyente De la Muestra

También necesarios
Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles

Ensayo

Aviso: para obtener un funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:
2 semanas

Muestras de Control de Calidad: Seguir las reglamentaciones gubernamentales o los requisitos de acreditación para conocer la frecuencia de control de calidad.

Utilizar controles o pooles de sueros con al menos dos niveles diferentes de progesterona (bajo y alto).

Siemens Healthcare Diagnostics recomienda el uso de materiales de control de calidad comercializados con al menos 2 niveles (bajo y alto). Un nivel de funcionamiento satisfactorio se consigue cuando los valores obtenidos del analito están dentro del rango de control aceptable para el sistema, o dentro del rango establecido determinado por un programa adecuado de control de calidad interno de laboratorio.

Valores Esperados

Los valores de normalidad fueron obtenidos en un estudio multinacional, con mujeres voluntarias en aparente buen estado de salud, edades comprendidas entre 16 y 44 años y con tomas de sangre diarias hasta completar un ciclo completo ovulatorio[23].

	Progesterona, ng/ml		
Ciclos ovulatorios	***n****	**Mediana**	**Central 95%**
Fase folicular	27 (382)	0,47	ND – 1,13
Mitad de la fase folicular, días 5 a 11	27 (186)	0,43	ND – 0,98
Ciclo medio	27 (27)	1,06	0,48 – 1,72
Fase lútea	27 (323)	8,9	0,95 – 21
Mitad de la fase lútea, 7 a 8 días del comienzo	27 (54)	13,1	6,0 – 24

*Número de individuos (número total de resultados)

	Progesterona, nmol/l		
Ciclos ovulatorios	***n****	**Mediana**	**Central 95%**
Fase folicular	27 (382)	1,5	ND – 3,6
Mitad de la fase folicular, días 5 a 11	27 (186)	1,4	ND – 3,1
Ciclo medio	27 (27)	3,4	1,5 – 5,5
Fase lútea	27 (323)	28	3,0 – 68
Mitad de la fase lútea, 7 a 8 días del comienzo	27 (54)	42	19 – 76

*Número de individuos (número total de resultados)

Ver "Menstrual Cycle Graph" (Curva del ciclo menstrual) en "Tables and Graphs" (Tablas y gráficos).

Otro estudio dió lugar a los siguientes resultados.

Unidades de masa (ng/ml)	Mediana	Rango absoluto	*n*
Hombres	0,52	0,27 – 0,90	63
Mujeres			
Fase folicular	0,67	0,33 – 1,2	29
Fase lútea	4,8	0,72 – 17,8	29
Post menopaúsicas	0,36	ND – 1,0	34
Anticonceptivos orales	0,70	0,34 – 0,92	19
Mujeres Embarazadas			
Primer trimestre	22,2	9,3 – 33,2	28
Segundo Trimestre	35,4	29,5 – 50,0	10
Tercer Trimestre	102	83,1 – 160	8

ND: no detectable.

Unidades de S.I. (nmol/l)	Mediana	Rango Absoluto	*n*
Hombres:	1,7	0,86 – 2,9	63
Mujeres			
Fase folicular	2,1	1,0 – 3,8	29
Fase lútea	15,3	2,3 – 56,6	29
Post menopaúsicas	1,1	ND – 3,2	34
Anticonceptivos orales	2,2	1,1 – 2,9	19
Mujeres Embarazadas			
Primer trimestre	70,6	29,6 – 106	28
Segundo Trimestre	113	93,8 – 159	10
Tercer Trimestre	324	264 – 509	8

ND: no detectable

En el embarazo, la tendencia general es que los valores aumenten. Existe una considerable variación en los niveles de progesterona en distintos individuos, particularmente en los grupos asociados con niveles elevados. (Note que la medición de los niveles de progesterona generalmente se considera inadecuada para monitorear la salud fetal en las últimas semanas del embarazo[8].)

Un estudio sectorial sobre los valores normales de fertilidad pediátrica llevados a cabo en indiviuos aparentemente sanos en suroeste de los Estados Unidos dió lugar a los siguientes resultados.

		Progesterona, ng/ml		
Grupo	Edad (años)	*n*	Mediana	Central 95%
Mujeres	Cordón	27	570	465 – 755
	0,1 – 0,4	24	1,2	0,25 – 17
	0,5 – 1	19	0,8	0,2 – 1,6
	1,1 – 9	38	0,4	ND – 1,4
Hombres	Cordón	27	520	345 – 650
	0,1 – 0,4	33	1,5	0,3 – 14
	0,5 – 1	14	0,8	ND – 2
	1,1 – 9	42	0,4	ND – 1,3
Combinado	Cordón	54	550	350 – 750
	0,1 – 0,4	57	1,5	0,25 – 17
	0,5 – 1	33	0,8	ND – 2
	1,1 – 9	80	0,4	ND – 1,3

ND: no detectable

		Progesterona, nmol/l		
Grupo	Edad (años)	*n*	Mediana	Central 95%
Mujeres	Cordón	27	1813	1479 – 2401
	0,1 – 0,4	24	3,8	0,8 – 54
	0,5 – 1	19	2,5	0,6 – 5,1
	1,1 – 9	38	1,3	ND – 4,5
Hombres	Cordón	27	1654	1097 – 2067
	0,1 – 0,4	33	4,8	1,0 – 45
	0,5 – 1	14	2,5	ND – 6,4
	1,1 – 9	42	1,3	ND – 4,1
Combinado	Cordón	54	1749	1113 – 2385
	0,1 – 0,4	57	4,8	0,8 – 54
	0,5 – 1	33	2,5	ND – 6,4
	1,1 – 9	80	1,3	ND – 4,1

ND: no detectable

Niños: Los intervalos de referencia de la población pediátrica (niños y adolescentes) para el ensayo IMMULITE Progesterona se establecieron de acuerdo con el documento EP28-A3C[24] del CLSI. Las muestras se obtuvieron de manera prospectiva a partir de sujetos pediátricos aparentemente sanos siguiendo criterios de inclusión predefinidos. Se generaron valores de referencia para subpoblaciones basadas en subgrupos clasificados por edad y etapa de Tanner en función del desarrollo fisiológico. El estudio se ha diseñado para establecer valores de referencia para hembras dentro de cada subgrupo de edad o etapa de Tanner. La etapa de Tanner de cada sujeto se evaluó en función del vello púbico y el desarrollo de los genitales/las mamas. La escala, propuesta por Neinstein y Kaufman, se usó para determinar las etapas de Tanner[25].

Los intervalos de referencia y los valores de Tanner se basaron en el 90% central (percentiles 5 y 95). Si las muestras no tienen un tamaño suficiente para calcular el percentil 5 o 95, se presentan los valores mínimos o máximos observados en las tablas Intervalos de referencia.

Intervalos de referencia de IMMULITE 2000/2000 XPi Progesterona para la población pediátrica

Edad (años)	*n*	Mediana	Rango
		ng/ml	
12	38	< 0,2	< 0,2 – 1,4
13 – 21	127	0,4	< 0,2 – 10,0
Edad (años)	*n*	Mediana	Rango
		nmol/l	
12	38	< 0,6	< 0,6 – 4,3
13 – 21	127	1,2	< 0,6 – 31,7

Intervalos de referencia de IMMULITE 2000/2000 XPi Progesterona para la población pediátrica por etapa de Tanner

Etapa de Tanner	*n*	Mediana	Rango
		ng/ml	
1	1	No aplicable	
2	18	< 0,2	< 0,2* – > 6,3†
3	49	0,2	< 0,2 – 8,3
4	45	0,3	< 0,2 – 7,0
5	52	0,6	< 0,2 – 11,3
Etapa de Tanner	*n*	Mediana	Rango
		nmol/l	
1	1	No aplicable	
2	18	< 0,6	< 0,6* – > 20,1†
3	49	0,6	< 0,6 – 26,3
4	45	0,9	< 0,6 – 22,2
5	52	2,0	< 0,6 – 35,8

* El valor presentado es el valor mínimo reportable observado; tamaño de muestra insuficiente para calcular un límite de percentil 5.

† El valor presentado es el valor máximo observado; tamaño de muestra insuficiente para calcular un límite de percentil 95.

Estos límites han de considerarse sólo como una *guía*. Cada Laboratorio deberá establecer sus propios rangos 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.

El suplemento dehidroepiandrosterona (DHEA) puede causar resultados falsamente elevados de progesterona en inmunoensayos. Con una concentración inicial de progesterona de 1,16 ng/ml, se observó un cambio de un 80,2% en la concentración al nivel suprafisiológico de DHEAS (metabolito de la DHEA) de 20.000 ng/ml. Para pacientes en tratamiento con DHEA, debe utilizarse un método alternativo con el que no se prevea reactividad cruzada al DHEAS (metabolito de la DHEA), como cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas (LC-MS).

Con la llegada de nuevas medicaciones basadas en esteroides (análogos) con estructuras químicas similares a la progesterona, existe la posibilidad de reactividad cruzada y resultados falsamente elevados. Para fines diagnósticos, los resultados deben evaluarse siempre en combinación con la anamnesis del paciente, su examen clínico y otras pruebas diagnósticas. Si los resultados de progesterona no son coherentes con las pruebas clínicas, es aconsejable realizar pruebas adicionales para confirmar el resultado.

Características Analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo ver 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 × 3,18 → nmol/l

Intervalo de calibración: 0,2 a 40 ng/ml (0,6 a 127 nmol/l)

El ensayo es trazable a un estándar interno fabricado usando procedimientos de medida y materiales cualificados.

Sensibilidad: 0,1 ng/ml (0,3 nmol/l)

Precisión: Las muestras fueron analizadas por duplicado durante 20 días, en dos tandas de trabajo por día, para un total de 40 tandas y 80 replicados. (Ver la tabla de “Precision”.)

Linealidad: Las muestras fueron analizadas en varias diluciones. (Ver la tabla de “Linearity” para resultados representativos.)

Recuperación: Se analizaron muestras sobrecargadas 1 en 19 con tres soluciones (25, 100 y 200 ng/ml) de progesterona. (Ver la tabla de “Recovery” para resultados representativos.)

Especificidad: El ensayo es altamente específico para progesterona. (Ver la tabla de “Specificity”.)

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina, conjugada y libre, en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Hemólisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 512 mg/dl,no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Lipemia: Interfiere con el ensayo, provocando una bajada de los valores. (Ver la tabla de “Lipemia”.)

Tipo de Muestra Alternativa: Para ver el efecto de muestras alternativas, se recogieron muestras sanguíneas de 19 voluntarios en tubos de vidrio y de plástico.

(Suero Plástico) = 1,03 (Suero Cristal) – 0,06 ng/ml
r = 0,997

Medias:
11,2 ng/ml (Suero Cristal)
11,5 ng/ml (Suero Plástico)

En otro estudio, se recogió sangre de 20 voluntarios en tubos normales de vidrio, tubos con Heparina, tubos con EDTA y tubos de vidrio del vacutainer SST de Becton Dickinson. Volúmenes iguales de muestras fueron sobrecargadas con varias concentraciones de progesterona, para obtener valores que cubrieran todo el rango de trabajo del ensayo, y fueron analizadas con el procedimeinto Progesterona IMMULITE 2000.

(Heparina) = 0,84 (Suero) + 0,4 ng/ml
r = 0,974

(EDTA) = 2,21 (Suero) + 4,8 ng/ml
r = 0,893

(SST) = 1,04 (tubos simples) + 0,02 ng/ml
r = 0,987

Medias:
9,6 ng/ml (Suero)
8,5 ng/ml (Heparina)
21,2 ng/ml (EDTA)
10,2 ng/ml (SST)

Comparación del Método 1: El ensayo fue comparado con Coat-A-Count Progesterona en 162 muestras de pacientes. (Rango de Concentración: aproximadamente 0,2 a 40 ng/ml. Ver el gráfico.) Por regresión linear:

(IML 2000) = 0,71 (CAC) + 0,33 ng/ml
r = 0,979

Medias:
8,2 ng/ml (IMMULITE 2000)
11,1 ng/ml (Coat-A-Count)

Comparación del Método 2: El IMMULITE 2000 Progesterona (L2KPW) también fue comparado con el IMMULITE/IMMULITE 1000 Progesterona (LKPG) en 182 muestras de pacientes.

(Intervalo de concentración: aproximadamente 0,2 a 20 ng/ml. Véase el gráfico Comparación del Método “2”.)
Por regresión linear:

(IML 2000 – L2KPW) = 0,79 (IML – LKPG) + 0,82 ng/ml
r = 0,969

Medias:
5,9 ng/ml (IMMULITE 2000 – L2KPW)
5,5 ng/ml (IMMULITE – LKPG)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

IMMULITE 2000 Progestérone

Domaine d'utilisation : Dosage quantitatif de la progestérone dans le sérum. Ce test est réservé à un usage diagnostique *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000 et constitue une aide au diagnostic et au traitement des troubles ovariens ou placentaire.

Référence catalogue :
L2KPW2 (200 tests), **L2KPW6** (600 tests)

Code produit : **PRG**
Code couleur : **vert clair**

Introduction

La progestérone est une hormone stéroïde qui joue un rôle important dans la phase préparatoire et l'évolution de la grossesse. Elle est synthétisée à partir du cholestérol par l'intermédiaire de la prégnénolone, puis elle est rapidement métabolisée en prégnandiol, pour la plus grande part dans le foie.[1,8,12] Les ovaires et le placenta sont les principaux sites de production ; mais une petite partie est synthétisée par le cortex surrénalien, aussi bien chez l'homme que chez la femme.

Les taux de progestérone circulante, qui sont caractéristiquement bas pendant la phase folliculaire, augmentent brusquement lors de la phase lutéale du cycle menstruel pour atteindre un maximum 5 à 10 jours après le pic de LH.[11] Excepté en cas de grossesse, les taux diminuent rapidement à la phase folliculaire, environ 4 jours avant le prochain cycle menstruel. Ce type de régulation permet d'utiliser les dosages de progestérone sérique comme une méthode simple et fiable pour détecter la phase ovulatoire.[2,3,15]

De nombreuses publications relatent des anomalies de la phase lutéale.[4,7,10,16,17] On considère que les dosages quotidiens de la progestérone constituent un bon moyen pour apprécier une phase lutéale anormale.[4,7] Certains auteurs ont estimé que sur 3 prélèvements, voire sur 1 seul à condition qu'ils soient effectués à un temps donné,[13,17] les dosages de progestérone peuvent apporter un éclaircissement sur l'état de la phase lutéale.

Les dosages de la progestérone sérique sont également utilisés pour vérifier l'efficacité d'une induction ovulatoire,[15] afin de programmer une thérapie supplétive et pour détecter ou évaluer le risque d'avortement au cours des premières semaines de grossesse.[5,6,14] Par contre, bien que les taux de progestérone augmentent tout au long de la grossesse, ils ne peuvent pas être utilisés pour le monitoring du bien-être fœtal pendant le troisième trimestre de grossesse.[8]

Principe du test

IMMULITE 2000 Progestérone est un immunodosage enzymatique chimiluminescent par compétition en phase solide.

Cycles d'incubation : 1 × 30 minutes

Recueil des échantillons

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 dûs 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 Progestérone 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.

EDTA : L'EDTA étant susceptible d'avoir un impact significatif sur les résultats, il ne devrait pas être utilisé comme anti-coagulant.

Des tubes avec barrière de gel : On observe une diminution progressive du taux de progestérone sur les échantillons de sérum collectés et stockés dans des tubes avec barrière de gel.[19,20,21]

Lipémie : il a été démontré que la lipémie macroscopique provoque une diminution de la concentration de progestérone apparente. Il est recommandé de clarifier les échantillons hyperlipémiques par ultracentrifugation.

Volume nécessaire : 25 µl de sérum

Conditions de conservation : 7 jours à 2–8°C ou 3 mois à –20°C.[18]

Dilution à bord automatique des échantillons fortement concentrés : tous les échantillons pour lesquels on s'attend à des valeurs situées au delà de l'intervalle de linéarité du dosage devront être dilués.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.



AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL
Contient du matériel d'origine humaine. Chaque don de sang ou de composant sanguin humain a été testé selon des méthodes homologuées par la FDA afin de détecter la présence d'anticorps dirigés contre les virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2), ainsi que la présence d'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) et d'anticorps dirigés contre le virus de l'hépatite C (VHC). Les résultats de ces tests se sont révélés non réactifs (ou réactifs mais de façon non répétable). Aucun test ne peut garantir totalement l'absence de ces agents infectieux ou d'autres agents infectieux ; ce matériel doit être manipulé en respectant les bonnes pratiques de laboratoire et les précautions universelles.[26–28]

AVERTISSEMENT : Ce dispositif contient des substances d'origine animale et doit être manipulé comme un porteur ou transmetteur potentiel de maladie.

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 toute contamination 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 Progestérone (L2PW12)
Avec code-barres. 200 billes revêtues d'un anticorps polyclonal de lapin anti-progestérone. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KPW2 : 1 cartouche
L2KPW6 : 3 cartouches

Cartouche à réactif Progestérone (L2PWA2)
Avec code-barres. 21 ml de progestérone marquée à la phosphatase alcaline (intestins de veau) dans un tampon, distribué à volume égal dans les compartiments A et B. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KPW2 : 1 cartouche
L2KPW6 : 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 Progestérone (LPWL, LPWH)
2 flacons d'ajusteurs (« bas » et « haut »), de 3 ml chacun, contenant de la progestérone dans du sérum humain prétraité avec conservateur. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KPW2 : 1 jeu **L2KPW6 :** 2 jeux

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

Composants du coffret fournis séparément

Multi-Diluant 1 (L2M1Z)
Pour la dilution à bord des échantillons de concentration élevée. Un flacon de solution concentrée (prête à l'emploi) Contenant du sérum humain exempt de Progestérone, avec conservateur. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2M1Z : 25 ml

Les étiquettes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 × 100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2M1Z : 3 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 × 100 mm)
L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

Egalement requis
Eau distillée ou désionisée ; tubes en verre ; contrôles

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000.

Voir le Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000 pour la préparation, le démarrage du système, la dilution, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé :
2 semaines

Echantillons pour le contrôle de qualité :
Suivre les réglementations gouvernementales et les exigences relatives aux accréditations en matière de fréquence de contrôle qualité.

Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) de progestérone.

Siemens Healthcare Diagnostics recommande d'utiliser des échantillons de contrôle de qualité en vente dans le commerce et comprenant au moins 2 niveaux (bas et haut). Un niveau de performance satisfaisant est atteint lorsque les valeurs d'analyte obtenues se situent dans l'intervalle de contrôle

acceptable du système ou dans un intervalle déterminé par un schéma de contrôle de qualité approprié interne au laboratoire.

Valeurs attendues

Les valeurs de référence ont été déterminées dans une étude internationale incluant des femmes apparemment en bonne santé (âge : 16–44 ans), volontaires pour un prélèvement de sang journalier pendant un cycle ovulatoire complet.[23]

Progestérone, ng/ml

Cycles d'ovulation	*n**	Médiane	Central 95%
Phase folliculaire	27 (382)	0,47	ND – 1,13
Milieu de phase folliculaire Jours 5 à 11	27 (186)	0,43	ND – 0,98
Milieu de cycle	27 (27)	1,06	0,48 – 1,72
Phase lutéale	27 (323)	8,9	0,95 – 21
Milieu de la phase lutéale, Jours 7 à 8 de la phase lutéale	27 (54)	13,1	6,0 – 24

*Nombre de sujets (total de résultats)

Progestérone, nmol/l

Cycles d'ovulation	*n**	Médiane	Central 95%
Phase folliculaire	27 (382)	1,5	ND – 3,6
Milieu de phase folliculaire Jours 5 à 11	27 (186)	1,4	ND – 3,1
Milieu de cycle	27 (27)	3,4	1,5 – 5,5
Phase lutéale	27 (323)	28	3,0 – 68
Milieu de la phase lutéale, Jours 7 à 8 de la phase lutéale	27 (54)	42	19 – 76

*Nombre de sujets (total de résultats)

Voir "Menstrual Cycle Graph" (Progression du cycle menstruel) in « Tables and Graphs » (tableaux et graphiques).

Une autre étude réalisée a donné les résultats suivants.

Unités de Masse (ng/ml)	Médiane	Domaine absolu de normalité	*n*
Hommes	0,52	0,27 – 0,90	63
Femmes:			
Phase folliculaire	0,67	0,33 – 1,2	29
Phase lutéale	4,8	0,72 – 17,8	29
postménauposées*	0,36	ND – 1,0	34
Sous contraception orale	0,70	0,34 – 0,92	19
Femmes enceintes			
1ème Trimestre	22,2	9,3 – 33,2	28
2ème Trimestre	35,4	29,5 – 50,0	10
3ème Trimestre	102	83,1 – 160	8

ND : non détectable

Unités S.I. (nmol/l)	Médiane	Domaine absolu de normalité	*n*
Hommes:	1,7	0,86 – 2,9	63
Femmes:			
Phase folliculaire	2,1	1,0 – 3,8	29
Phase lutéale	15,3	2,3 – 56,6	29
postménauposées*	1,1	ND – 3,2	34
Sous contraception orale	2,2	1,1 – 2,9	19
Femmes enceintes			
1ème Trimestre	70,6	29,6 – 106	28
2ème Trimestre	113	93,8 – 159	10
3ème Trimestre	324	264 – 509	8

ND : non détectable

Il est normal qu'au cours de la grossesse, les taux augmentent. Il existe des variations interindividuelles considérables dans les taux de progestérone, en particulier dans les groupes associés à des concentrations élevées. (Noter que l'on considère en général que le dosage du taux de progestérone ne permet pas de vérifier le bon développement du fœtus pendant les dernières semaines de grossesse.[8])

Une étude en pédiatrie sur les valeurs de fertilité, réalisée dans une clinique du sud ouest des Etats-Unis, a donné les résultats suivants.

		Progestérone, ng/ml		
Groupe	Âge (année)	*n*	Médiane	Central 95%
Femmes	Cordon	27	570	465 – 755
	0,1 – 0,4	24	1,2	0,25 – 17
	0,5 – 1	19	0,8	0,2 – 1,6
	1,1 – 9	38	0,4	ND – 1,4
Hommes	Cordon	27	520	345 – 650
	0,1 – 0,4	33	1,5	0,3 – 14
	0,5 – 1	14	0,8	ND – 2
	1,1 – 9	42	0,4	ND – 1,3
Combiné	Cordon	54	550	350 – 750
	0,1 – 0,4	57	1,5	0,25 – 17
	0,5 – 1	33	0,8	ND – 2
	1,1 – 9	80	0,4	ND – 1,3

ND : non détectable

		Progestérone, nmol/l		
Groupe	Âge (année)	*n*	Médiane	Central 95%
Femmes	Cordon	27	1813	1479 – 2401
	0,1 – 0,4	24	3,8	0,8 – 54
	0,5 – 1	19	2,5	0,6 – 5,1
	1,1 – 9	38	1,3	ND – 4,5
Hommes	Cordon	27	1654	1097 – 2067
	0,1 – 0,4	33	4,8	1,0 – 45
	0,5 – 1	14	2,5	ND – 6,4
	1,1 – 9	42	1,3	ND – 4,1
Combiné	Cordon	54	1749	1113 – 2385
	0,1 – 0,4	57	4,8	0,8 – 54
	0,5 – 1	33	2,5	ND – 6,4
	1,1 – 9	80	1,3	ND – 4,1

ND : non détectable

Échantillons pédiatriques : Les intervalles de référence pour la population pédiatrique (enfants et adolescents) ont été définis pour le dosage IMMULITE Progestérone conformément à la directive EP28-A3C du CLSI.[24] Les échantillons ont préalablement été collectés sur des sujets pédiatriques apparemment en bonne santé, en utilisant des critères d'inclusion prédéfinis. Des valeurs de référence ont été obtenues pour les sous-populations en fonction de l'âge et des sous-groupes correspondant aux différents stades de développement physiologique tels que définis par Tanner. L'étude a été conçue pour définir des valeurs de référence pour les femmes dans chaque sous-groupe d'âge ou stade de Tanner. Le classement du patient sur l'échelle de Tanner se fait en fonction du stade de développement des organes génitaux/des seins et des poils pubiens. L'échelle proposée par Neinstein et Kaufman a été utilisée pour déterminer les stades de Tanner.[25]

Les intervalles de référence et les valeurs de Tanner reposent sur l'intervalle de confiance à 90% (5ème et 95ème percentiles). Quand les tailles d'échantillon étaient insuffisantes pour calculer le 5ème ou le 95ème percentile, les valeurs minimale ou maximale observées sont indiquées dans le tableau des Intervalles de référence.

Intervalles de référence pédiatrique d'IMMULITE 2000/2000 XPi Progestérone

Âge (années)	*n*	Médiane	Plage
		ng/ml	
12	38	< 0,2	< 0,2 – 1,4
13 – 21	127	0,4	< 0,2 – 10,0
Âge (années)	*n*	Médiane	Plage
		nmol/l	
12	38	< 0,6	< 0,6 – 4,3
13 – 21	127	1,2	< 0,6 – 31,7

Intervalles de référence pédiatrique d'IMMULITE 2000/2000 XPi Progestérone selon le stade de Tanner

Stade de Tanner	*n*	Médiane	Plage
		ng/ml	
1	1	Sans Objet	
2	18	< 0,2	< 0,2* – > 6,3†
3	49	0,2	< 0,2 – 8,3
4	45	0,3	< 0,2 – 7,0
5	52	0,6	< 0,2 – 11,3
Stade de Tanner	*n*	Médiane	Plage
		nmol/l	
1	1	Sans Objet	
2	18	< 0,6	< 0,6* – > 20,1†
3	49	0,6	< 0,6 – 26,3
4	45	0,9	< 0,6 – 22,2
5	52	2,0	< 0,6 – 35,8

* La valeur présentée est la valeur de mesure minimale observée ; taille d'échantillon insuffisante pour calculer une limite de 5ème percentile.

† La valeur présentée est la valeur maximale observée ; taille d'échantillon insuffisante pour calculer une limite de 95ème percentile.

Utiliser ces valeurs *à titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devrait 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 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.

Une supplémentation en déhydroépiandrostérone (DHEA) peut donner des résultats de progestérone faussement élevés dans les immunodosages. À une concentration initiale de progestérone de 1,16 ng/ml, un changement de concentration de 80,2 % a été observé au niveau supra-physiologique de sulfate de DHEA (un métabolite de la DHEA) de 20 000 ng/ml. Pour les patients traités par DHEA, il est nécessaire d'utiliser une autre méthode de dosage supposée ne pas présenter de réaction croisée avec le sulfate de DHEA (un métabolite de la DHEA), telle que la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS).

Avec l'arrivée de nouveaux traitements à base de stéroïdes (analogues) dont la structure chimique est similaire à la progestérone, il existe une possibilité de réaction croisée et de résultats faussement élevés. À des fins diagnostiques, les résultats doivent toujours être évalués en les confrontant aux antécédents médicaux du patient, aux signes cliniques et autres observations. Si les résultats de progestérone ne correspondent pas à l'évidence clinique, d'autres tests sont recommandés pour confirmer le résultat.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en ng/ml. (En l'absence de précision supplémentaire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques prélevés sur tubes sans anticoagulant, ni gel, ni activateur de la coagulation.)

Facteur de conversion :
ng/ml × 3,18 → nmol/l

Domaine de mesure : de 0,2 à 40 ng/ml (de 0,6 à 127 nmol/l)

Le dosage peut être retracé à un standard interne, manufacturé à l'aide de matériaux et procédures de mensuration qualifiées.

Sensibilité analytique : 0,1 ng/ml (0,3 nmol/l)

Précision : les valeurs ont été établies à partir de doublets dosés dans deux séries différentes chaque jour pendant 20 jours soit au total 40 séries et 80 doublets. (Voir le tableau « Precision ».)

Test de dilution : les échantillons ont été testés avec des taux de dilution variés (Voir le tableau « Linearity » pour des données représentatives.)

Test de récupération: Les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions de progestérone (25, 100 et 200 ng/ml) (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : Le test est hautement spécifique de la progestérone. (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 : il a été démontré que l'hyperlipémie provoque une diminution de la concentration de progestérone apparente. (Voir le tableau « Lipemia ».)

Autres types d'échantillons : Afin de déterminer l'effet que peuvent avoir d'autres types d'échantillons, du sang de 19 volontaires a été prélevé sur tubes.

(Sérum, plastique) = 1,03 (Sérum, verre) – 0,06 ng/ml
r = 0,997

Moyennes :
11,2 ng/ml (Sérum, verre)
11,5 ng/ml (Sérum, plastique)

Dans une autre étude, le sang de 20 volontaires a été prélevé sur tubes vacutainer en verre, secs, héparinés, EDTA et Becton Dickinson SST. Des volumes égaux de ces divers échantillons ont été surchargés avec différentes concentrations d'progestérone afin d'obtenir des valeurs comprises dans le domaine de mesure du dosage et ensuite dosés avec la procédure IMMULITE 2000 Progestérone.

(Hépariné) = 0,84 (Sérum) + 0,4 ng/ml
r = 0,974

(EDTA) = 2,21 (Sérum) + 4,8 ng/ml
r = 0,893

(SST) = 1,04 (tubes ordinaires) + 0,02 ng/ml
r = 0,987

Moyennes :
9,6 ng/ml (Sérum)
8,5 ng/ml (Hépariné)
21,2 ng/ml (EDTA)
10,2 ng/ml (SST)

Comparaison de méthodes 1 : le test a été comparé au test Progestérone Coat-A-Count sur 162 échantillons de patients (dont les concentrations allaient d'environ 0,2 à 40 ng/ml. Voir graphique « Method Comparison 1 ».) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 0,71 (CAC) + 0,33 ng/ml
r = 0,979

Moyennes :
8,2 ng/ml (IMMULITE 2000)
11,1 ng/ml (Coat-A-Count)

Comparaison de méthodes 2 : Le dosage IMMULITE 2000 Progestérone (L2KPW) a également été comparé au test IMMULITE/IMMULITE 1000 Progestérone (LKPG) sur 182 échantillons (dont les concentrations allaient d'environ 0,2 à 20 ng/ml. Voir le graphique « Method Comparison 2 ».) Par régression linéaire :

(IML 2000 – L2KPW) = 0,79 (IML – LKPG) + 0,82 ng/ml
r = 0,969

Moyennes :
5,9 ng/ml (IMMULITE 2000 – L2KPW)
5,5 ng/ml (IMMULITE – LKPG)

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

Le Système Qualité de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. est certifié ISO 13485.

Italiano

IMMULITE 2000 Progesterone

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa del progesterone nel siero quale ausilio nella determinazione di disturbi ovarici o placentari.

Codice: **L2KPW2** (200 test), **L2KPW6** (600 test)

Codice del Test: **PRG**
Colore: **verde chiaro**

Riassunto e Spiegazione del Test

Il progesterone è un ormone steroideo che gioca un ruolo importante nella preparazione e nel mantenimento della gravidanza. Viene sintetizzato dal colesterolo attraverso il pregnenolone, quindi rapidamente metabolizzato in pregnanediolo, per la maggior parte, nel fegato.[1,8,12] L'ovaio e la placenta sono i siti di maggior produzione; ma una piccola quantità viene anche sintetizzata dalla corteccia surrenalica sia nell'uomo che nella donna.

I livelli di progesterone in circolo, che sono tipicamente bassi durante la fase follicolare, aumentano rapidamente durante la fase luteinica del ciclo mestruale, e raggiungono il massimo da 5 a 10 giorni dopo il picco di LH a metà ciclo.[11] A meno che non si verifichi una gravidanza, si assiste ad un declino repentino a livelli follicolari circa 4 giorni prima del ciclo mestruale successivo. L'andamento di cui sopra costituisce la regola al di là dell'uso ben consolidato di dosare il progesterone quale metodo semplice ed affidabile per l'individuazione dell'ovulazione.[2,3,15]

Esiste una letteratura in espansione sui difetti della fase luteinica.[4,7,10,16,17] I livelli giornalieri di progesterone sono considerati i mezzi più accurati per documentare una fase luteinica anomala.[4,7] Tuttavia, alcuni ricercatori hanno trovato che tre campioni o anche un unico campione[13,17] (prelevato con la tempistica giusta) può fornire informazioni preziose sull'adeguatezza della fase luteinica.

I dosaggi del progesterone nel siero sono stati anche usati per verificare l'efficacia dell'ovulazione indotta,[15] per monitorare la terapia di sostituzione del progesterone[15] e per individuare e valutare pazienti a rischio di aborto durante le prime settimane di gravidanza.[5,6,14] D'altra parte, benchè i livelli di progesterone aumentino durante la gravidanza, non sono considerati un mezzo idoneo per monitorare la salute del feto durante il terzo trimestre.[8]

Principio del Dosaggio

Il Dosaggio IMMULITE 2000 Progesterone é un dosaggio immunoenzimatico, chemiluminescente, in fase solida.

Cicli d'incubazione: 1 × 30 minuti

Prelievo del Campione

Campioni emolizzati possono indicare un trattamento non idoneo del campione prima dell'arrivo al laboratorio; per questo motivo, i risultati devono essere interpretati con prudenza.

La centrifugazione dei campioni di siero prima che la coagulazione sia completa può produrre fibrina. Per evitare risultati errati dovuti alla presenza di fibrina, assicurarsi che il processo di coagulazione sia completo prima di centrifugare i campioni. Alcuni campioni, in modo particolare quelli di pazienti sottoposti a terapia con anticoagulanti, possono richiedere tempi di coagulazione più lunghi.

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. Il Dosaggio IMMULITE 2000 Progesterone non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

EDTA: Siccome l'EDTA ha un effetto significativo sui risultati, non deve essere utilizzato come anticoagulante.

Barriere di Gel: È' stata notata, nel tempo, una diminuzione dei livelli di progesterone nei casi in cui il siero sia stato prelevato e conservato in provette a barriera di gel.[19,20,21]

Lipemia: Una forte lipemia apparente causa una riduzione nella concentrazione di progesterone. Si raccomanda di usare un ultracentrifuga per eliminare i campioni lipemici.

Volume richiesto: 25 µL di siero

Conservazione: 7 giorni a 2–8°C o 3 mesi a –20°C.[18]

Diluizione di campioni con livelli elevati: Tutti i campioni con livelli più elevati del range di calibrazione del dosaggio devono essere diluiti automaticamente.

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.



CAUTELA! POTENZIALE RISCHIO BIOLOGICO
Contiene materiale di origine umana. Ciascuna donazione di sangue o componenti ematici umani è stata testata con metodi approvati dalla FDA per rilevare la presenza di anticorpi al virus dell'immunodeficienza umana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2),

nonché per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e gli anticorpi al virus dell'epatite C (HCV). I test sono risultati negativi (non ripetutamente reattivi). Nessun test offre assicurazione completa che questi o altri agenti infettivi siano assenti; questo materiale va trattato utilizzando le corrette prassi di laboratorio e le precauzioni universali.[26–28]

CAUTELA: Questo dispositivo contiene materiale di origine animale e deve essere trattato come un potenziale vettore e trasmettitore della malattia.

Reagenti: Conservare i reagenti a 2–8°C. Eliminare in conformità alle leggi vigenti.

Seguire le precauzioni universali e manipolare tutti i componenti come se fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati dal sangue umano sono stati testati con esito negativo per la sifilide, gli anticorpi anti-HIV 1 e 2, l'Antigene di Superficie dell'Epatite B e 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 unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

Contenitore di Sferette Progesterone (L2PW12)
Con codice a barre. 200 sferette coattate con un anticorpo policlonale di coniglio anti-progesterone. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KPW2: 1 confezione
L2KPW6: 3 confezioni

Porta Reagente Progesterone (L2PWA2)
Con codice a barre. 21 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con progesterone in un tampone, dispensata in maniera eguale nella camera A e B. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KPW2: 1 Porta Reagente
L2KPW6: 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.

Calibratori Progesterone (LPWL, LPWH)
Due flaconi (Basso ed Alto) ciascuno con 3 mL di progesterone in siero umano processato con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KPW2: 1 set **L2KPW6:** 2 set

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste (fornite col kit) sulle provette cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore.

Componenti del kit forniti separatamente

Multidiluente 1 (L2M1Z)
Per la diluizione interna di campioni ad elevata concentrazione. Una provetta di siero umano normale processato, concentrato (pronto all'uso), contenente livelli da non rilevabili a bassi di progesterone, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2M1Z: 25 mL

Vengono fornite le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm cosicchè i codici a barre possano essere letti dal lettore interno
L2M1Z: 3 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 × 100 mm) per Diluente del Campione
L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluente del Campione

Acqua distillata o deionizzata; provette di vetro; controlli

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 2 settimane

Controllo di Qualità: Per la frequenza del controllo di qualità seguire le normative in vigore o i requisiti di accreditamento.

Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (alto e basso) di progesterone.

Siemens Healthcare Diagnostics consiglia l'utilizzo di materiali di controllo della qualità disponibili in commercio con almeno 2 livelli (bassi e alti). Un livello soddisfacente di prestazioni si raggiunge quando i valori dell'analita ottenuti rientrano nei range di accettabilità del Controllo per il sistema o nei range stabiliti all'interno del laboratorio attraverso un programma appropriato di valutazione del controllo di qualità.

Valori Attesi

I range di riferimento sono stati generati all'interno di uno studio multi-nazionale che ha coinvolto donne in apparente stato di buona salute (età: 16–44 anni), che volontariamente hanno collaborato sottoponendosi ad un prelievo giornaliero di sangue per l'intera durata di un ciclo ovulatorio.[23]

Progesterone, ng/mL

Cicli Ovulatori	*n**	Mediana	Centrale 95%
Fase follicolare	27 (382)	0,47	ND – 1,13
Mid-follicolare dal 5° all' 11° giorno	27 (186)	0,43	ND – 0,98
Ciclo centrale	27 (27)	1,06	0,48 – 1,72
Fase luteinica	27 (323)	8,9	0,95 – 21
Mid-luteinica dal 7° all' 8° giorno della Fase luteinica	27 (54)	13,1	6,0 – 24

*Numero di pazienti (numero totale di risultati)

Progesterone, nmol/L

Cicli Ovulatori	*n**	Mediana	Centrale 95%
Fase follicolare	27 (382)	1,5	ND – 3,6
Mid-follicolare dal 5° all' 11° giorno	27 (186)	1,4	ND – 3,1
Ciclo centrale	27 (27)	3,4	1,5 – 5,5
Fase luteinica	27 (323)	28	3,0 – 68
Mid-luteinica dal 7° all' 8° giorno della Fase luteinica	27 (54)	42	19 – 76

*Numero di pazienti (numero totale di risultati)

Vedi "Menstrual Cycle Graph" (Diagramma del Ciclo Mestruale) in "Tables and Graphs" (tabelle e grafici).

Un altro studio ha prodotto i seguenti risultati.

Unità di misura (ng/mL)	Mediana	Range assoluto	*n*
Uomini	0,52	0,27 – 0,90	63
Donne			
Fase follicolare	0,67	0,33 – 1,2	29
Fase luteinica	4,8	0,72 – 17,8	29
post menopausale	0,36	ND – 1,0	34
Contraccettivi orali	0,70	0,34 – 0,92	19
Donne gravide			
Primo Trimestre	22,2	9,3 – 33,2	28
Secondo Trimestre	35,4	29,5 – 50,0	10
Terzo Trimestre	102	83,1 – 160	8

ND: non determinable

Unità di misura (nmol/L)	Mediana	Range assoluto	*n*
Uomini	1,7	0,86 – 2,9	63
Donne			
Fase follicolare	2,1	1,0 – 3,8	29
Fase luteinica	15,3	2,3 – 56,6	29
post menopausale	1,1	ND – 3,2	34
Contraccettivi orali	2,2	1,1 – 2,9	19
Donne gravide			
Primo Trimestre	70,6	29,6 – 106	28
Secondo Trimestre	113	93,8 – 159	10
Terzo Trimestre	324	264 – 509	8

ND: non determinable

In generale, il periodo di gestazione tende a presentare un aumento dei valori. Esiste una variazione interpersonale considerevole nei valori di progesterone, particolarmente nei gruppi con livelli elevati. (Si prega di notare che la misurazione dei livelli di progesterone è generalmente considerata inadatta per il monitoraggio del benessere fetale nelle settimane più avanzate della gravidanza.[8])

Uno studio inter-disciplinare su valori di fertilità pediatrica presso una Clinica nel Sud-Ovest degli Stati Uniti ha prodotto i seguenti risultati.

		Progesterone, ng/mL		
Gruppo	Età (anni)	*n*	Mediana	Centrale 95%
Donne	Cordone	27	570	465 – 755
	0,1 – 0,4	24	1,2	0,25 – 17
	0,5 – 1	19	0,8	0,2 – 1,6
	1,1 – 9	38	0,4	ND – 1,4
Uomini	Cordone	27	520	345 – 650
	0,1 – 0,4	33	1,5	0,3 – 14
	0,5 – 1	14	0,8	ND – 2
	1,1 – 9	42	0,4	ND – 1,3
Combinato	Cordone	54	550	350 – 750
	0,1 – 0,4	57	1,5	0,25 – 17
	0,5 – 1	33	0,8	ND – 2
	1,1 – 9	80	0,4	ND – 1,3

ND: non determinable

		Progesterone, nmol/L		
Gruppo	Età (anni)	*n*	Mediana	Centrale 95%
Donne	Cordone	27	1813	1479 – 2401
	0,1 – 0,4	24	3,8	0,8 – 54
	0,5 – 1	19	2,5	0,6 – 5,1
	1,1 – 9	38	1,3	ND – 4,5
Uomini	Cordone	27	1654	1097 – 2067
	0,1 – 0,4	33	4,8	1,0 – 45
	0,5 – 1	14	2,5	ND – 6,4
	1,1 – 9	42	1,3	ND – 4,1
Combinato	Cordone	54	1749	1113 – 2385
	0,1 – 0,4	57	4,8	0,8 – 54
	0,5 – 1	33	2,5	ND – 6,4
	1,1 – 9	80	1,3	ND – 4,1

ND: non determinable

Popolazione pediatrica: Sono stati stabiliti gli intervalli di riferimento per la popolazione pediatrica (bambini e adolescenti) per il dosaggio IMMULITE Progesterone in conformità alle linee guida CLSI EP28-A3C.[24] I campioni sono stati raccolti in modo prospettico da soggetti pediatrici apparentemente sani, utilizzando criteri di inclusione predefiniti. I valori di riferimento sono stati generati per le sottopopolazioni sulla base di sottogruppi suddivisi per età e stadio di Tanner sulla base dello sviluppo fisiologico. Lo studio è stato sviluppato per determinare i valori di riferimento per la popolazione femminile all'interno di ciascun sottogruppo per età o stadio di Tanner. Lo stadio di Tanner del soggetto è stato valutato sulla base della peluria pubica e dello sviluppo dei genitali/del seno. La scala proposta da Neinstein and Kaufman è stata utilizzata per determinare gli stadi di Tanner.[25]

Gli intervalli di riferimento e i valori relativi allo stadio di Tanner si basano sul 90% centrale (5° e 95° percentile). Laddove il numero di campioni non è stato sufficiente per poter effettuare il calcolo del 5° o 95° percentile, vengono indicati i valori massimo e minimo osservati nelle tabelle Intervalli di riferimento.

Intervalli di riferimento pediatrici di IMMULITE 2000/2000 XPi Progesterone

Età (anni)	*n*	Mediana	Intervallo
		ng/mL	
12	38	< 0,2	< 0,2 – 1,4
13 – 21	127	0,4	< 0,2 – 10,0
Età (anni)	*n*	Mediana	Intervallo
		nmol/L	
12	38	< 0,6	< 0,6 – 4,3
13 – 21	127	1,2	< 0,6 – 31,7

Intervalli di riferimento pediatrici di IMMULITE 2000/2000 XPi Progesterone per stadio di Tanner

Stadio di Tanner	*n*	Mediana	Intervallo
		ng/mL	
1	1	Non applicabile	
2	18	< 0,2	< 0,2* – > 6,3†
3	49	0,2	< 0,2 – 8,3
4	45	0,3	< 0,2 – 7,0
5	52	0,6	< 0,2 – 11,3
Stadio di Tanner	*n*	Mediana	Intervallo
		nmol/L	
1	1	Non applicabile	
2	18	< 0,6	< 0,6* – > 20,1†
3	49	0,6	< 0,6 – 26,3
4	45	0,9	< 0,6 – 22,2
5	52	2,0	< 0,6 – 35,8

* È indicato il valore minimo refertabile osservato; dimensione dei campioni insufficiente per il calcolo di un limite del 5° percentile.

† È indicato il valore massimo osservato; numero di campioni insufficiente per il calcolo del limite del 95° percentile.

Detti valori dovrebbero essere considerati solo come *suggerimento*. Ogni laboratorio deve 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.

Il deidroepiandrosterone (DHEA) come integratore può provocare risultati di progesterone falsamente elevati negli immunodosaggi. A una concentrazione iniziale di progesterone di 1,16 ng/mL, è stata osservata una variazione nella concentrazione dell'80,2% al livello sovrafisiologico di DHEAS (metabolita di DHEA) di 20.000 ng/mL. Per i pazienti trattati con DHEA, deve essere usato un metodo alternativo che non si prevede determini crossreattività con DHEAS (metabolita di DHEA), come la cromatografia liquida-spettrometria di massa (LC-MS).

Con l'avvento di nuovi farmaci a base di steroidi (analoghi) con strutture chimiche simili al progesterone, vi è la possibilità di reattività crociata e risultati falsamente elevati. Per scopi diagnostici, i risultati devono essere sempre valutati unitamente all'anamnesi clinica del paziente, all'esame clinico e altri risultati. Se i risultati del progesterone sono incoerenti con l'evidenza clinica, si raccomanda di eseguire altri test per confermare il risultato.

Prestazioni del Dosaggio

Vedi tavole e grafici per dati *rappresentativi*. I risultati sono indicati in ng/mL. (Laddove non diversamente specificato, tutti i dati sono stati generati su campioni di siero prelevati in provette senza gel separatore o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.)

Fattore di Conversione:
ng/mL × 3,18 → nmol/L

Range di calibrazione: 0,2 a 40 ng/mL (0,6 a 127 nmol/L)

Il dosaggio è standardizzato verso uno standard interno preparato usato con materiali e secondo procedure di qualità.

Sensibilità analitica: 0,1 ng/mL (0,3 nmol/L)

Precisione: Sono stati dosati campioni in doppio in 20 giorni, due sedute al giorno, per un totale di 40 sedute ed 80 replicati. (Vedi Tabella "Precision".)

Linearità: Sono stati dosati campioni a diluizioni diverse. (Vedi Tabella "Linearity" per dati rappresentativi.)

Recupero: Sono stati dosati campioni ai quali sono state aggiunte tre soluzioni di progesterone 1:19 (25, 100 ed 200 ng/mL). (Vedi Tabella "Recovery" per dati rappresentativi.)

Specificità: Il dosaggio è estremamente specifico per il progesterone. (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: Interferisce con il dosaggio, provocando una depressione dei valori. (Vedi tabella "Lipemia".)

Tipo di Campione Alternativo: Per valutare l' effetto di campioni alternativi, é stato prelevato sangue proveniente da 19 volontari in provette per siero di vetro semplice e di plastica.

(Plastica per Siero) = 1,03 (Vetro per Siero) – 0,06 ng/mL
r = 0,997

Valore medio:
11,2 ng/mL (Vetro per Siero)
11,5 ng/mL (Plastica per Siero)

In un altro studio, il sangue è stato prelevato a 20 volontari in tubi di vetro normali, eparinati, con EDTA e in vacutainer Becton Dickinson SST. Ad eguali volumi di campioni misti sono state aggiunte varie concentrazioni di Progesterone per ottenere valori lungo l' intero range di calibrazione del dosaggio e quindi dosati con il kit IMMULITE 2000 Progesterone.

(Eparina) = 0,84 (Siero) + 0,4 ng/mL
r = 0,974

(EDTA) = 2,21 (Siero) + 4,8 ng/mL
r = 0,893

(SST) = 1,04 (tubi semplici) + 0,02 ng/mL
r = 0,987

Valore medio:
9,6 ng/mL (Siero)
8,5 ng/mL (Eparina)
21,2 ng/mL (EDTA)
10,2 ng/mL (SST)

Comparazione di Metodi 1: Il dosaggio è stato comparato al Progesterone Coat-A-Count su 162 campioni. (Range di concentrazione: da 0,2 fino a 40 ng/mL. Vedi grafico “Method Comparison 1”.) con regressione lineare:

(IML 2000) = 0,71 (CAC) + 0,33 ng/mL
r = 0,979

Valore medio:
8,2 ng/mL (IMMULITE 2000)
11,1 ng/mL (Coat-A-Count)

Comparazione di Metodi 2: Il dosaggio del Progesterone IMMULITE 2000 (L2KPW) è stato anche comparato al dosaggio Progesterone IMMULITE/IMMULITE 1000 (LKPG) su 182 campioni di pazienti (Range di concentrazione: circa da 0,2 a 20 ng/mL. Vedi grafico “Method Comparison 2”.) Mediante regressione lineare:

(IML 2000 – L2KPW) = 0,79 (IML – LKPG) + 0,82 ng/mL
r = 0,969

Valore medio:
5,9 ng/mL (IMMULITE 2000 – L2KPW)
5,5 ng/mL (IMMULITE – LKPG)

Assistenza Tecnica

Contattare il distributore nazionale.

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

Progesterona

Utilização: Para o diagnóstico *in vitro* em conjunto com os Analisadores dos Sistemas IMMULITE 2000 — para o doseamento quantitativo da progesterona no soro, no auxílio do diagnóstico e tratamento de doenças dos ovários ou da placenta.

Números de catálogo: **L2KPW2** (200 testes), **L2KPW6** (600 testes)

Código do teste: **PRG** Cor: **Verde claro**

Sumário e explicação do teste

A progesterona é uma hormona esteroide que desempenha um papel muito importante na preparação e na manutenção da gravidez. É sintetizada a partir do colesterol via pregnenolona — metabolizada rápidamente em pregnanediol, na sua maioria, no fígado[1,8,12]. O ovário e a placenta são os locais de maior produção, mas uma pequena parcela é sintetizada no cortex adrenal quer no homem quer na mulher.

Os níveis da progesterona circulante, que normalmente são baixos durante a fase folicular, aumentam de maneira significativa durante a fase luteínica do ciclo menstrual, atingindo o seu máximo entre os 5 e os 10 dias após o pico do LH no meio do ciclo[11]. A não ser que ocorra gravidez, ocorre um declínio para níveis foliculares nos 4 dias antes do próximo período menstrual. Este padrão constitui a explicação lógica para o uso do doseamento serológico da progesterona, estabelecido como simples e fidedigno para a detecção da ovulação[2,3,15].

Muitas referências na literatura citam defeitos na fase luteínica[4,7,10,16,17]. Os níveis diários de progesterona são considerados os meios mais exactos para essa análise[4,7]. No entanto, alguns investigadores concluíram que o uso de três ou até mesmo de uma amostra[13,17] (se colhida na altura certa) pode fornecer informações valiosas na adequação da fase luteínica.

Doseamentos da progesterona serológica também têm sido usados para verificar a eficiência da indução da ovulação[15], monitorizar a terapêutica de reposição de progesterona[15] e para detectar e avaliar pacientes em risco de abortar durante as primeiras semanas de gravidez[5,6,14]. Por outro lado, embora os níveis de progesterona aumentem durante a gravidez, eles não são utilizados como método apropriado para monitorizar o bem-estar do feto durante o 3º trimestre[8].

Princípio do procedimento

O IMMULITE 2000 Progesterona é um imunoensaio competitivo de fase sólida, de enzimas quimico-luminosas.

Ciclos de incubação: 1 × 30 minutos

Colheita

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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 Progesterona não foram ainda testados com todas as possiveis variações originadas pelos tipos de tubos. Consultar a secção Tipos de Amostras Alternativas para obter detalhes sobre os tubos que foram testados.

EDTA: Como EDTA teria um efeito significativo nos resultados, não deve ser usado como anticoagulante.

Tubos de Barreira de Gel: Diminuições dependentes de tempo em níveis de progesterona foram relatadas quando as amostras de soro são colhidas e

armazenadas em Tubos de Barreira de Gel[19,20,21].

Lipemia: Uma lipemia acentuada demonstra provocar uma descida na concentração aparente da progesterona. A utilização de uma ultracentrifuga é recomendada no tratamento de amostras lipémicas.

Volume de amostra: 25 µL de soro

Estabilidade: 7 dias a 2–8°C, ou 3 meses a –20°C[18].

Diluição de amostras: Todas as amostras em que se esperam níveis acima da calibração do doseamento devem ser diluídas no aparelho.

Precauções

Para o diagnóstico *in vitro.*



PRECAUÇÃO! POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO
Contém material de origem humana. Cada dádiva de sangue ou componente de sangue humano foi testada pelos métodos aprovados pela FDA quanto à presença de anticorpos dos vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e tipo 2 (VIH-2), bem como do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e dos anticorpos do vírus da hepatite C (VHC). Os resultados dos testes foram negativos (não repetidamente reactivos). Nenhum teste oferece total garantia de que estes ou outros agentes infecciosos estejam ausentes; este material deve ser manuseado de acordo com as boas práticas laboratoriais e precauções universais[26–28].

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como um possível portador e transmissor de doenças.

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, dando 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, com concentrações menores que 0,1 g/dL, foi adicionada a certos componentes como conservante. Ao eliminar, dilua com grandes volumes de água para evitar a acumulação de azidas metálicas explosivas em canalizações de chumbo e cobre.

Substrato quimioluminescente: Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula).

Água: Utilize água destilada ou desionizada.

Materiais fornecidos

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. As etiquetas no interior das caixas são necessárias para o ensaio.

Embalagem de pérolas de Progesterona (L2PW12)
Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com anticorpo policlonal de coelho anti-progesterona. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KPW2: 1 embalagem
L2KPW6: 3 embalagens

Embalagem de reagente de Progesterona (L2PWA2)
Com código de barras. Contém 21 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugada com progesterona em tampão, divididos de igual modo pelas câmaras A e B. Estável até à data de validade a 2–8°C.
L2KPW2: 1 embalagem
L2KPW6: 3 embalagens

Antes de utilizar, retire a parte superior da etiqueta na perfuração, sem danificar o código de barras. Remova o selo de alumínio do topo da embalagem, e encaixe a tampa deslizante nas rampas da tampa do reagente.

Ajustes Progesterona (LPWL, LPWH)
Dois frascos (nível alto e baixo) cada um contendo 3 mL de progesterona em matriz de soro humano, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KPW2: 1 conjunto
L2KPW6: 2 conjuntos

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas de alíquota apropriadas (fornecidas com o "kit") em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Multidiluente 1 (L2M1Z)
Para diluição de amostras no aparelho. Um frasco de concentrado pronto a usar, constituído por soro humano normal, processado, com níveis baixos ou indetectáveis de Progesterona, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2M1Z: 25 mL

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2M1Z: 3 etiquetas

L2SUBM: Substrato quiomioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Kit de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)
L2ZT: 250 Tubos de diluente da amostra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

Também necessário
Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos

Procedimento do doseamento

Ter em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000.

Consultar o Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000 relativamente aos procedimentos de preparação, diluição, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável:
2 semanas

Amostras de controlo de qualidade:
Observe os regulamentos governamentais ou os requisitos de acreditação quanto à frequência do controlo de qualidade

Utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de progesterona.

A Siemens Healthcare Diagnostics recomenda a utilização de materiais de controlo de qualidade comercialmente disponíveis com pelo menos 2 níveis (baixo e alto). É alcançado um nível de desempenho satisfatório quando os valores dos analitos obtidos estiverem dentro dos Limites de Controlo Aceitáveis para o sistema ou dentro dos limites estabelecidos e determinados pelo regime de controlo de qualidade laboratorial interno adequado.

Valores de Referência

Os seguintes valores de referência foram obtidos, através de um estudo multi-nacional, com mulheres saudáveis (16–44 anos de idade), as quais se voluntarizaram a uma análise sanguínea diária durante um ciclo ovulatório completo[23].

	Progesterona, ng/mL		
Ciclos Ovulatórios	***n****	**Mediana**	**Central 95%**
Fase folicular	27 (382)	0,47	ND – 1,13
Média Folicular, dias 5 a 11	27 (186)	0,43	ND – 0,98
Meio ciclo	27 (27)	1,06	0,48 – 1,72
Fase luteal	27 (323)	8,9	0,95 – 21
Média Lútea, dias 7 a 8 da fase luteal	27 (54)	13,1	6,0 – 24

*Número de indivíduos (número total de resultados)

	Progesterona, nmol/L		
Ciclos Ovulatórios	***n****	**Mediana**	**Central 95%**
Fase folicular	27 (382)	1,5	ND – 3,6
Média Folicular, dias 5 a 11	27 (186)	1,4	ND – 3,1
Meio ciclo	27 (27)	3,4	1,5 – 5,5
Fase luteal	27 (323)	28	3,0 – 68
Média Lútea, dias 7 a 8 da fase luteal	27 (54)	42	19 – 76

*Número de indivíduos (número total de resultados)

Ver "Menstrual Cycle Graph" (Plano de Ciclo Menstrual) em "Tables and Graphs" (tabelas e gráficos).

Um outro estudo forneceu os seguintes resultados:

Unidades de massa (ng/mL)	Mediana	Valor absoluto	*n*
Homens	0,52	0,27 – 0,90	63
Mulheres			
Fase folicular	0,67	0,33 – 1,2	29
Fase luteal	4,8	0,72 – 17,8	29
Pós-menopausa*	0,36	ND – 1,0	34
Anticoncepcionais orais	0,70	0,34 – 0,92	19
Mulheres Grávidas			
Primeiro trimestre	22,2	9,3 – 33,2	28
Segundo trimestre	35,4	29,5 – 50,0	10
Terceiro trimestre	102	83,1 – 160	8

ND: não é detectável

Unidades S.I. (nmol/L)	Mediana	Valor absoluto	*n*
Homens	1,7	0,86 – 2,9	63
Mulheres			
Fase folicular	2,1	1,0 – 3,8	29
Fase luteal	15,3	2,3 – 56,6	29
Pós-menopausa*	1,1	ND – 3,2	34
Anticoncepcionais orais	2,2	1,1 – 2,9	19
Mulheres Grávidas			
Primeiro trimestre	70,6	29,6 – 106	28
Segundo trimestre	113	93,8 – 159	10
Terceiro trimestre	324	264 – 509	8

ND: não é detectável

Durante a gravidez observam-se valores mais altos. Existe uma variação significativa interpessoal nos valores de progesterona em grupos associados com níveis mais elevados. Note que o doseamento da progesterona não está indicado para a monitoração do bem-estar fetal nas semanas finais de gravidez[8].

Um estudo de valores pediátricos realizado numa Clinica de Repouso no sudoeste dos E.U.A., forneceu os seguintes resultados.

		Progesterona, ng/mL		
Sexo	Idade (anos)	*n*	Mediana	Central 95%
F.	Cordão	27	570	465 – 755
	0,1 – 0,4	24	1,2	0,25 – 17
	0,5 – 1	19	0,8	0,2 – 1,6
	1,1 – 9	38	0,4	ND – 1,4
M.	Cordão	27	520	345 – 650
	0,1 – 0,4	33	1,5	0,3 – 14
	0,5 – 1	14	0,8	ND – 2
	1,1 – 9	42	0,4	ND – 1,3
M./F.	Cordão	54	550	350 – 750
	0,1 – 0,4	57	1,5	0,25 – 17
	0,5 – 1	33	0,8	ND – 2
	1,1 – 9	80	0,4	ND – 1,3

ND: não é detectável

		Progesterona, nmol/L		
Sexo	Idade (anos)	*n*	Mediana	Central 95%
F.	Cordão	27	1813	1479 – 2401
	0,1 – 0,4	24	3,8	0,8 – 54
	0,5 – 1	19	2,5	0,6 – 5,1
	1,1 – 9	38	1,3	ND – 4,5
M.	Cordão	27	1654	1097 – 2067
	0,1 – 0,4	33	4,8	1,0 – 45
	0,5 – 1	14	2,5	ND – 6,4
	1,1 – 9	42	1,3	ND – 4,1
M./F.	Cordão	54	1749	1113 – 2385
	0,1 – 0,4	57	4,8	0,8 – 54
	0,5 – 1	33	2,5	ND – 6,4
	1,1 – 9	80	1,3	ND – 4,1

ND: não é detectável

Pediátrico: Os intervalos de referência da população pediátrica (crianças e adolescentes) para o ensaio Progesterona IMMULITE foram estabelecidos de acordo com a norma EP28-A3C do CLSI[24]. As amostras de indivíduos pediátricos aparentemente saudáveis foram colhidas de forma prospectiva utilizando critérios de inclusão predefinidos. Foram gerados valores de referência para subpopulações baseadas na faixa etária e no estádio de Tanner conforme o desenvolvimento fisiológico. O estudo foi concebido para estabelecer valores de referência para indivíduos do sexo feminino de cada faixa etária ou estádio de Tanner. O estádio de Tanner do indivíduo foi avaliado com base no desenvolvimento de pêlos púbicos e dos órgãos genitais/seios. A escala proposta por Neinstein e Kaufman foi utilizada na determinação dos estádios de Tanner[25].

Os intervalos de referência e os valores de Tanner baseiam-se nos 90% centrais (percentis 5 e 95). Nos casos em que os tamanhos de amostra eram insuficientes para calcular o percentil 5 ou 95, o valor mínimo ou máximo observado é apresentado nas tabelas de Intervalos de referência.

Intervalos de referência pediátricos do Progesterona IMMULITE 2000/2000 XPi

Idade (anos)	*n*	Mediana	Intervalo
		ng/mL	
12	38	< 0,2	< 0,2 – 1,4
13 – 21	127	0,4	< 0,2 – 10,0
Idade (anos)	*n*	Mediana	Intervalo
		nmol/L	
12	38	< 0,6	< 0,6 – 4,3
13 – 21	127	1,2	< 0,6 – 31,7

Intervalos de referência pediátricos do Progesterona IMMULITE 2000/2000 XPi por estádio de Tanner

Estádio de Tanner	*n*	Mediana	Intervalo
		ng/mL	
1	1	Não aplicável	
2	18	< 0,2	< 0,2* – > 6,3†
3	49	0,2	< 0,2 – 8,3
4	45	0,3	< 0,2 – 7,0
5	52	0,6	< 0,2 – 11,3
Estádio de Tanner	*n*	Mediana	Intervalo
		nmol/L	
1	1	Não aplicável	
2	18	< 0,6	< 0,6* – > 20,1†
3	49	0,6	< 0,6 – 26,3
4	45	0,9	< 0,6 – 22,2
5	52	2,0	< 0,6 – 35,8

* O valor apresentado é o valor mínimo reportável observado; tamanho da amostra insuficiente para calcular um limite de percentil 5.

† O valor apresentado é o valor máximo reportável observado; tamanho da amostra insuficiente para calcular um limite de percentil 95.

Estes valores devem ser considerados apenas como *directrizes*. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores.

Limitações

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.

O suplemento Dehidroepiandrosterona (DHEA) pode provocar resultados falsamente elevados de progesterona em imunoensaios. A uma concentração inicial de Progesterona de 1,16 ng/mL, observou-se uma alteração na concentração de 80,2% ao nível suprafisiológico de DHEAS (metabolito DHEA) de 20 000 ng/mL. Para doentes em tratamento com DHEA, deve ser utilizado um método alternativo que se espera não demonstrar reactividade cruzada com DHEAS (metabolito DHEA), como Cromatografia líquida-Espectrometria de massa (LC-MS).

Com o surgimento de novos medicamentos à base de esteróides (análogos) com estruturas químicas semelhantes à progesterona, existe a possibilidade de reactividade cruzada e de resultados falsamente elevados. Para fins de diagnóstico, os resultados devem ser sempre avaliados em conjunto com o historial médico do doente, o exame clínico e outros dados de interesse. Se os resultados de progesterona forem inconsistentes com a evidência clínica, sugere-se a realização de testes adicionais para confirmar o resultado.

Características do ensaio

Ver tabelas e gráficos para dados representativos da performance 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 × 3,18 → nmol/L

Calibração: 0,2 a 40 ng/mL
(0,6 a 127 nmol/L)

O ensaio é monotorizado com padrão interno feito com materiais qualificados e procedimentos de medição.

Sensibilidade Analítica: 0,1 ng/mL
(0,3 nmol/L)

Precisão: As amostras foram doseadas em duplicado durante 20 dias, 2 ensaios por dia, perfazendo um total de 40 ensaios e 80 réplicas. (Ver a tabela de "Precision".)

Linearidade: As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. (Ver a tabela de "Linearity" para dados representativos.)

Recuperação: Amostras adicionadas na relação de 1 para 19 com três soluções de progesterona (25, 100 e 200 ng/mL) foram doseadas. (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

Especificidade: O doseamento é específico para a progesterona. (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.

Hemolise: A presença de hemoglobina em concentrações até 512 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipémia: Interfere com o doseamento originanda a sua diminuição. (Vêr a tabela "Lipémia".)

Tipo de amostra alternativa: Para avaliar o efeito de tipos de amostras alternativas, foi colhido sangue de 19 voluntários em tubos secos de vidro e plástico.

(Soro Plástico) = 1,03 (Soro em Vidro) – 0,06 ng/mL
r = 0,997

Médias:
11,2 ng/mL (Soro em Vidro)
11,5 ng/mL (Soro Plástico)

Em outro estudo, foi colhido sangue de 20 voluntários em tubos lisos heparinizados, com EDTA e em tubos de vácuo de vidro com SST da Becton Dickinson. Volumes iguais de amostras idênticas forma adicionados com várias concentrações de progesterona, de modo a obter valores em toda a gama de calibração do ensaio, e foram testados pelos métodos IMMULITE 2000 Progesterone.

(Heparina) = 0,84 (Soro) + 0,4 ng/mL
r = 0,974

(EDTA) = 2,21 (Soro) + 4,8 ng/mL
r = 0,893

(SST) = 1,04 (tubos simples) + 0,02 ng/mL
r = 0,987

Means:
9,6 ng/mL (Soro)
8,5 ng/mL (Heparina)
21,2 ng/mL (EDTA)
10,2 ng/mL (SST)

Comparação de métodos 1: O doseamento foi comparado com a Progesterona Coat-A-Count em 162 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 0,2 a 40 ng/mL. Ver gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 0,71 (CAC) + 0,33 ng/mL
r = 0,979

Médias:
8,2 ng/mL (IMMULITE 2000)
11,1 ng/mL (Coat-A-Count)

Comparação de métodos 2: O Kit de Progesterona IMMULITE 2000 (L2KPW) foi comparado com o Kit de Progesterona do IMMULITE/IMMULITE 1000 (LKPG) em 182 amostras de doentes. (Valores de concentração aproximados de 0,2 a 20 ng/mL. Consulte o gráfico "Comparação de métodos 2".) Regressão linear:

(IML 2000 – L2KPW) = 0,79 (IML – LKPG) + 0,82 ng/mL
r = 0,969

Médias:
5,9 ng/mL (IMMULITE 2000 – L2KPW)
5,5 ng/mL (IMMULITE – LKPG)

Assistência Técnica

Contacte o seu distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE and Coat-A-Count are trademarks of Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2018 Siemens Healthcare Diagnostics.
All rights reserved.

Made in: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

CE

2018-07-11

PIL2KPW – 24

cc#EU23262, cc#EU23262A, cc#EU23328, cc#EU23328A/B

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol Definition

IVD

En: *In vitro* diagnostic medical device
De: Medizinisches Gerät zur *In-vitro* Diagnose
Es: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
Fr: Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
It: Dispositivo medico per diagnostica *in vitro*
Pt: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

REF

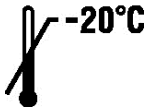
En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo

En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante

EC REP

En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia

Symbol	Definition
CE	**En:** CE Mark **De:** CE-Kennzeichen **Es:** Marca CE **Fr:** Marque CE **It:** Marchio CE **Pt:** Marca CE
CE 0088	**En:** CE Mark with identification number of notified body **De:** CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle **Es:** Marca CE con número de identificación del organismo notificado **Fr:** Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié **It:** Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato **Pt:** Marca CE, com número de identificação do organismo notificado
	**En:** Consult instructions for use **De:** Bedienungshinweise beachten **Es:** Consulte las instrucciones de uso **Fr:** Consulter le mode d'emploi **It:** Consultare le istruzioni per l'uso **Pt:** Consulte as instruções de utilização
	**En:** Caution! Potential Biohazard **De:** Vorsicht! Biologisches Risikomaterial **Es:** ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial **Fr:** Avertissement ! Risque biologique potentiel **It:** Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico **Pt:** Atenção! Potenciais Riscos Biológicos
	**En:** Temperature limitation (2–8°C) **De:** Temperaturgrenze (2–8°C) **Es:** Limitación de temperatura (2–8°C) **Fr:** Limites de température (2–8°C) **It:** Limiti di temperatura (2–8°C) **Pt:** Limites de temperatura (2–8°C)

Symbol	Definition
	**En:** Upper limit of temperature (≤ -20°C) **De:** Obere Temperaturgrenze (≤ -20°C) **Es:** Límite superior de temperatura (≤ -20°C) **Fr:** Limite supérieure de température (≤ -20°C) **It:** Limite superiore di temperatura (≤ -20°C) **Pt:** Limite máximo de temperatura (≤ -20°C)
	**En:** Lower limit of temperature (≥ 2°C) **De:** Mindesttemperatur (≥ 2°C) **Es:** Límite inferior de temperatura (≥ 2°C) **Fr:** Limite inférieure de température (≥ 2°C) **It:** Limite inferiore di temperatura (≥ 2°C) **Pt:** Limite mínimo de temperatura (≥ 2°C)
	**En:** Do not freeze (> 0°C) **De:** Nicht einfrieren (> 0°C) **Es:** No congelar (> 0°C) **Fr:** Ne pas congeler (> 0°C) **It:** Non congelare (> 0°C) **Pt:** Não congelar (> 0°C)
	**En:** Do not reuse **De:** Nicht zur Wiederverwendung **Es:** No reutilizar **Fr:** Ne pas réutiliser **It:** Non riutilizzare **Pt:** Não reutilizar
	**En:** Keep away from sunlight **De:** Vor Sonneneinstrahlung schützen **Es:** Proteger de la luz solar **Fr:** Maintenir hors de portée de la lumière du soleil **It:** Non esporre alla luce del sole **Pt:** Manter afastado da luz solar
	**En:** Batch code **De:** Chargenbezeichnung **Es:** Número de lote **Fr:** Numéro de code du lot **It:** Codice lotto **Pt:** Código de lote

Symbol	Definition
	**En:** Contains sufficient for (n) tests **De:** Es reicht für (n) Tests **Es:** Contiene suficiente para (n) pruebas **Fr:** Contient du matériel suffisant pour (n) tests **It:** Contiene materiale sufficiente per (n) test **Pt:** Contém o suficiente para (n) testes
2008-01	**En:** Date format (year-month) **De:** Datumsformat (Jahr-Monat) **Es:** Formato de fecha (año-mes) **Fr:** Format de la date (année-mois) **It:** Formato data (anno-mese) **Pt:** Formato de data (ano-mês)
	**En:** Use by **De:** Verwendbar bis **Es:** Fecha de caducidad **Fr:** A utiliser avant **It:** Usare entro **Pt:** Usar até
	**En:** Health Hazard **De:** Gesundheitsgefährdung **Es:** Peligro para la salud **Fr:** Dangereux pour la santé **It:** Pericolo per la salute **Pt:** Perigo para a saúde
	**En:** Exclamation Mark **De:** Ausrufezeichen **Es:** Signo de exclamación **Fr:** Point d'exclamation **It:** Punto esclamativo **Pt:** Ponto de exclamação
	**En:** Corrosion **De:** Korrosion **Es:** Corrosión **Fr:** Corrosion **It:** Corrosione **Pt:** Corrosão
	**En:** Skull and Crossbones **De:** Totenkopf mit gekreuzten Knochen **Es:** Calavera y tibias cruzadas **Fr:** Tête de mort sur tibias croisés **It:** Teschio e tibie incrociate **Pt:** Caveira sobre tíbias cruzadas
	**En:** Environment **De:** Umwelt **Es:** Medio ambiente **Fr:** Environnement **It:** Ambiente **Pt:** Ambiente

Symbol	Definition
BEAD PACK	**En:** Bead Pack **De:** Kugel-Container **Es:** Cartucho de bolas **Fr:** Cartouche de billes **It:** Contenitore di biglie **Pt:** Embalagem de esferas
TEST UNIT	**En:** Test Unit **De:** Testeinheit **Es:** Unidades de análisis **Fr:** Unité de test **It:** Test Unit **Pt:** Unidades de Teste
REAG WEDGE **REAG WEDGE A** **REAG WEDGE B** **REAG WEDGE D**	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste

Symbol	Definition
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL CONTROL 1 CONTROL 2 CONTROL 3	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo

Symbol	Definition
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

Prolactin

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 Prolactin

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the quantitative measurement of prolactin in serum, as an aid in the diagnosis and treatment of pituitary disorders.

Catalog Number: **L2KPR2** (200 tests), **L2KPR6** (600 tests)

Test Code: **PRL** Color: **Dark Blue**

Summary and Explanation

Human prolactin is a polypeptide hormone of the anterior pituitary with a molecular mass of about 22,800. It plays an essential role in the secretion of milk and has the ability to suppress gonadal function. The very existence of prolactin as a substance distinct from human growth hormone was established only in 1970. Since that time, determination of prolactin has become an important tool in the investigation of amenorrhea, galactorrhea and hypothalamic-pituitary disorders.

As a reference range for circulating prolactin, the literature suggests concentrations up to approximately 20 ng/mL. Values are distinctly elevated at birth but decline to adult levels in less than three months.

Women are reported to have slightly higher mean levels than men, with a slight rise at puberty — apparently estrogen related — and a corresponding fall at menopause. During pregnancy, the prolactin level climbs steadily to ten or twenty times its former value, then drops back down to normal after delivery — within three weeks in nonnursing mothers. In those who breast-feed, the decline to normal is more gradual because of the prompt and dramatic surges in prolactin release induced by suckling. Women taking oral contraceptives or under estrogen treatment may have prolactin levels higher than normal.

In assessing the significance of moderate elevations, it is important to keep in mind that prolactin is a stress hormone. Not only surgery, but events no more distressing than venipuncture or a clinical interview have been reported to occasion a transient rise. Moreover, the release of prolactin is inherently episodic, and day-to-day fluctuations with CVs as high as 30% have been encountered. Finally, there is a sleep-related diurnal variation: prolactin levels increase during sleep and reach their lowest a few hours after waking. The advice sometimes given to draw samples "between nine and noon" is based on the assumption that subjects observe reasonably normal waking hours.

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 Prolactin is a solid-phase, two-site chemiluminescent immunometric assay.

Incubation Cycles: 1 × 30 minutes
Time to first result: 35 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 Prolactin has not been tested with all possible variations of tube types.

Volume Required: 25 µL serum

Storage: 7 days at 2–8°C, or 3 months at –20°C.

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.

H412 **P273, P501**	Harmful to aquatic life with long lasting effects. Avoid release to the environment. Dispose of contents and container in accordance with all local, regional, and national regulations. **Contains:** 2-methyl-2H-isothiazol-3-one; Prolactin Adjustors

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.

Prolactin Bead Pack (L2PR12)
With barcode. 200 beads, coated with monoclonal murine anti-prolactin. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KPR2: 1 pack **L2KPR6:** 3 packs

Prolactin Reagent Wedge (L2PRA2)
With barcode. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to polyclonal goat anti-prolactin, with preservative. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KPR2: 1 wedge **L2KPR6:** 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.

Prolactin Adjustors (LPRL, LPRH)
Two vials (Low and High), of lyophilized human prolactin in a serum/buffer matrix. Reconstitute each vial with **2.0 mL** distilled or deionized water, and mix by gentle inversion. Stable after reconstitution for 60 days (aliquotted) at –20°C.
L2KPR2: 1 set **L2KPR6:** 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

Prolactin Sample Diluent (L2PRZ)
For on-board dilution of high samples. 25 mL of concentrated (ready-to-use) processed, prolactin-free serum/buffer matrix. 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 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.
L2PRZ: 3 labels

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate
L2PWSM: Probe Wash
L2KPM: Probe Cleaning Kit
LRXT: Reaction Tubes (disposable)
L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

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 Systems Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual for preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval: 4 weeks

Quality Control Samples: Follow government regulations or accreditation requirements for quality control frequency.

Use controls or serum pools with at least two levels (low and high) of prolactin.

Siemens Healthcare Diagnostics recommends the use of commercially available quality control materials with at least 2 levels (low and high). A satisfactory level of performance is achieved when the analyte values obtained are within the Acceptable Control Range for the system, or within an established range determined by an appropriate internal laboratory quality control scheme.

Expected Values

Based on its relationship to IMMULITE Prolactin (see Method Comparison), the assay can be expected to have essentially the same reference range.

Group	*n*	Median	96% Range
Adult Males	19	6.2 ng/mL	2.5 – 17
		131 mIU/L	53 – 360

A study[17] performed with IMMULITE Prolactin yielded the following results.

Group	*n*	Median	95% Range
Adult Females	115	9.4 ng/mL	1.9 – 25
		199 mIU/L	40 – 530

As summarized in technical report ZB157,[17] in a study which followed normal ovulating women on a daily basis throughout one complete cycle, somewhat higher values were obtained — an outcome consistent with the increasingly stressful sample collection process entailed by the study design.

A cross-sectional study of pediatric fertility values performed with IMMULITE Prolactin at a "wellness" clinic in the southwestern United States yielded the following results.

			Prolactin, ng/mL	
Group	Age (yr)	*n*	Median	Central 95%
Females	Cord	28	380	200 – 675
	0.1 – 0.5	28	15	1 – 140
	0.6 – 9	55	11	2 – 43
Males	Cord	27	295	150 – 565
	0.1 – 0.5	36	19	4 – 65
	0.6 – 9	55	8	0.6 – 29
Combined	Cord	55	340	160 – 665
	0.1 – 0.5	64	117	2 – 125
	0.6 – 9	110	9	1 – 40

			Prolactin, mIU/L	
Group	Age (yr)	*n*	Median	Central 95%
Females	Cord	28	8056	4240 – 14,310
	0.1 – 0.5	28	318	21 – 2968
	0.6 – 9	55	233	42 – 912
Males	Cord	27	6254	3180 – 11,978
	0.1 – 0.5	36	403	85 – 1378
	0.6 – 9	55	170	13 – 615
Combined	Cord	55	7208	3392 – 14,098
	0.1 – 0.5	64	2480	42 – 2650
	0.6 – 9	110	191	21 – 848

Pediatric: Reference intervals for the pediatric population (children and adolescents) were established for the IMMULITE Prolactin assay in accordance with CLSI guideline EP28-A3C.[18] Samples were collected prospectively from apparently healthy pediatric subjects, using predefined inclusion criteria. Reference values were generated for subpopulations based on age and Tanner stage subgroups based on physiological development. The study was designed to establish reference values across genders, and to include approximately equal numbers of males and females within each age or Tanner stage subgroup. The subject's Tanner stage was assessed based on pubic hair and genitalia/breast development. The scale proposed by Neinstein and Kaufman was used for the determination of the Tanner stages.[19]

The reference intervals and Tanner values are based on the central 90% (5th and 95th percentiles). Where sample sizes were insufficient to calculate the 5th or

95th percentile, the minimum or maximum observed values are presented in the Reference Intervals tables.

IMMULITE 2000/2000 XPi Prolactin Pediatric Reference Intervals

Male

Age (Years)	*n*	Median	Range
		ng/mL	
2 – 3	10	7.8	< 3.5* – > 21.9†
4 – 9	57	6.7	3.1 – 17.3
10 – 16	203	5.8	2.7 – 11.8
17 – 21	37	7.1	4.6 – 15.2
Age (Years)	*n*	Median	Range
		mIU/L	
2 – 3	10	164.3	< 74.2* – > 464.3†
4 – 9	57	142.0	67.2 – 366.1
10 – 16	203	123.0	57.7 – 249.3
17 – 21	37	150.5	96.9 – 322.2

Female

Age (Years)	*n*	Median	Range
		ng/mL	
2 – 3	17	8.0	< 2.8* – > 13.9†
4 – 9	47	6.3	2.7 – 14.3
10 – 12	93	7.0	3.2 – 17.6
13 – 21	127	8.1	3.8 – 22.1
Age (Years)	*n*	Median	Range
		mIU/L	
2 – 3	17	169.6	< 59.4* – > 294.7†
4 – 9	47	133.6	58.1 – 302.7
10 – 12	93	148.4	68.9 – 372.9
13 – 21	127	171.7	80.6 – 467.7

*Value presented is the minimum reportable value observed; insufficient sample size to calculate a 5th percentile limit.

† Value presented is the maximum value observed; insufficient sample size to calculate a 95th percentile limit.

IMMULITE 2000/2000 XPi Prolactin Pediatric Reference Intervals by Tanner Stage

Male

Tanner Stage	*n*	Median	Range
		ng/mL	
1	73	6.0	3.4 – 17.8
2	64	5.3	2.3 – 11.4
3	63	5.2	3.2 – 11.3
4	59	6.6	2.8 – 15.2
5	48	6.7	4.3 – 13.2
Tanner Stage	*n*	Median	Range
		mIU/L	
1	73	127.2	70.8 – 377.6
2	64	112.4	48.8 – 242.2
3	63	110.2	67.8 – 238.7
4	59	139.9	59.4 – 322.2
5	48	142.0	91.2 – 280.4

Female

Tanner Stage	*n*	Median	Range
		ng/mL	
1	73	6.5	2.8 – 17.1
2	47	6.8	3.1 – 19.9
3	65	8.0	3.3 – 17.7
4	47	8.2	3.4 – 22.1
5	52	7.3	3.8 – 21.9
Tanner Stage	*n*	Median	Range
		mIU/L	
1	73	137.8	59.4 – 361.9
2	47	144.2	67.0 – 422.3
3	65	169.6	69.7 – 375.5
4	47	173.8	72.9 – 467.7
5	52	155.8	81.1 – 464.4

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 × 21.2 → mIU/L [3rd IS 84/500]

Reportable Range: 0.5–150 ng/mL (10.6–3180 mIU/L) in terms of the 3rd IS 84/500

Analytical Sensitivity: 0.5 ng/mL (10.6 mIU/L)

High-dose Hook Effect: None up to 20,500 ng/mL (434,600 mIU/L)

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 four prolactin solutions (190, 356, 928 and 1740 ng/mL), were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody is highly specific for prolactin. (See "Specificity" table.)

Alternate Sample Type: A *limited* study of matched samples from laboratory volunteers yielded comparable results for serum and heparinized plasma.

Bilirubin: Presence of 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 375 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 3000 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Method Comparison: The assay was compared to IMMULITE Prolactin on 148 samples. (Concentration range: approximately 1 to 140 ng/mL. See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 1.00 (IML) – 0.96 ng/mL
r = 0.988

Means:
44 ng/mL (IMMULITE 2000)
45 ng/mL (IMMULITE)

References

1) Cowden E, et al. Laboratory assessment of prolactin status. Ann Clin Biochem 1979;16:113–21. 2) Cowden E, et al. Tests of prolactin secretion. Lancet 1979;1155–8. 3) Djursing H. Short- and long-term fluctuations in plasma prolactin concentration in normal subjects. Acta Endocrinol 1981; 97:1–6. 4) Greer ME, et al. Prevalence of hyperprolactinemia in anovulatory women. Obstet Gynecol 1980;56:65–9. 5) Harrington RA, et al. Metoclopramide: an updated review. Drugs 1983;25:451–94. 6) Healy DL, et al. Pituitary autonomy in hyperprolactinemia secondary amenorrhea: results of hypothalamic-pituitary testing. J Clin Endocrinol Metab 1977;44:809–18. 7) Kleinberg DL, Noel GL, Frantz AG. Galactorrhea: a study of 235 cases. N Engl J Med 1977;296:589–600. 8) Knuth UA, Friesen HG. Prolactin and pregnancy. Curr Top Exp Endocrinol 1983;4:69–96. 9) Maxson WS, Hammond CB. Hyperprolactinemia. Contemp Ob/Gyn 1982 Jan;19(1):49–63, 19:67–83. 10) Pepperell RJ. Prolactin and reproduction. Fertil Steril 1981;35:267–74. 11) Babson, AL. The IMMULITE Automated Immunoassay System. J Clin Immunoassay 1991;14:83-8. 12) Thorner MO. Prolactin: clinical physiology and management of hyperprolactinemia. In: Martini L, Besser GM, et al, editors. Clinical endocrinology. New York: Academic Press, 1977;319–61. 13) Tolis G, Franks S. Physiology and pathology of prolactin secretion. In: Tolis G, et al, editors. Clinical endocrinology: a pathophysiological approach. New York: Raven Press, 1979;291–317. 14) Tolis G, et al. Aspects of prolactin pathophysiology. Periodicum Biologorum 1983;85 Suppl 1:29–36. 15) Yen SSC. Neuroendocrine regulation of gonadotropin and prolactin secretion in women: disorders in reproduction. In: Vaitukaitis J, editor. Clinical reproductive endocrinology. New York: Elsevier Biomedical, 1982;137–76. 16) Zacur HA. Use of the human prolactin immunoassay. J Clin Immunoassay 1983

Spring;6(1):63–67. 17) Vankrieken L. IMMULITE reproductive hormone assays: multicenter reference range data. Los Angeles: Diagnostic Products Corporation, 2000. Document No. ZB157-D. 18) Clinical and Laboratory Standards Institute. *Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Third Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010. CLSI Guideline EP28-A3C. 19) Neinstein LS and Kaufman FR, Chapter 1: Normal Physical Growth and Development in Neinstein L.S. *Adolescent Health Care: A Practical Guide*, 4th ed.

Technical Assistance

Contact your National Distributor.

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485:2003.

Tables and Graphs

Precision (ng/mL)

		Within-Run[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	5.5	0.18	3.3%	0.27	4.9%
2	11.9	0.39	3.3%	0.57	4.8%
3	22.3	0.60	2.7%	0.90	4.0%
4	64.5	1.8	2.8%	3.3	5.1%
5	121	3.4	2.8%	6.4	5.3%
6	127	4.3	3.4%	5.8	4.6%

Linearity (ng/mL)

	Dilution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	8 in 8[5]	34	—	—
	4 in 8	17	17	100%
	2 in 8	8.2	8.5	96%
	1 in 8	4.0	4.3	93%
2	8 in 8	73	—	—
	4 in 8	36	37	97%
	2 in 8	17	18	94%
	1 in 8	8.1	9.1	89%
3	8 in 8	84	—	—
	4 in 8	41	42	98%
	2 in 8	20	21	95%
	1 in 8	9.6	11	87%
4	8 in 8	120	—	—
	4 in 8	59	60	98%
	2 in 8	28	30	93%
	1 in 8	13	15	87%

Specificity

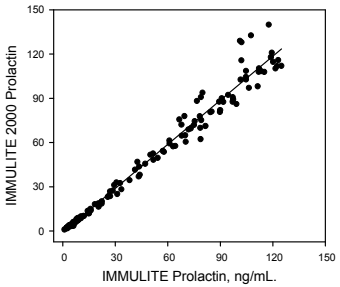
Compound[1]	Amount Added[2] (ng/mL)	% Cross-reactivity[3]
FSH	1000	ND
	200	ND
HCG	1000	ND
	100	ND
hPL	200,000	ND
LH	1000	ND
	500	ND
TSH	1000	0.14%

ND: Not detectable.[4]

Recovery (ng/mL)

	Solution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	—	1.9	—	—
	A	11	11	100%
	B	18	20	90%
	C	51	48	106%
	D	91	89	102%
2	—	9.6	—	—
	A	18	19	95%
	B	27	27	100%
	C	54	55	98%
	D	92	96	96%
3	—	19	—	—
	A	28	28	100%
	B	36	36	100%
	C	66	64	103%
	D	108	105	103%
4	—	28	—	—
	A	37	37	100%
	B	46	45	102%
	C	73	73	100%
	D	113	114	99%
5	—	47	—	—
	A	52	55	95%
	B	63	63	100%
	C	92	91	101%
	D	128	132	97%

Method Comparison



(IML 2000) = 1.00 (IML) – 0.96 ng/mL
r = 0.988

Deutsch. **Precision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]SD (Standardbereich), [5]CV (Variationskoeffizient). **Linearity**: [1]Verdünnung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Lösung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E. **Specificity**: [1]Verbindung, [2]zugesetzte Menge, [3]% Kreuzreaktivität, [4]NN: Nicht nachweisbar. **Method Comparison.** Prolactin: Prolaktin.

Español. **Precision**: [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV. **Linearity**: [1] Dilución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 en 8. **Recovery**: [1]Solución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Specificity**: [1]Compuesto, [2] Cantidad añadida, [3]% Reacción cruzada, [4]ND: no detectable. **Method Comparison.** Prolactin: Prolactina.

Français. **Precision**: [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]SD, [5]CV. **Linearity**: [1]Dilution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A, [5]8 dans 8. **Recovery**: [1]Solution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A. **Specificity**: [1]Composé, [2]ajouté, [3]Réaction croissée%, [4]ND: non détectable. **Method Comparison**: Prolactin: Prolactine.

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity**: [1]Diluizione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Soluzione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A. **Specificity**: [1]Composto, [2]quantità aggiunta, [3]Percentuale di Crossreattività, [4]ND: non determinabile. **Method Comparison.** Prolactin: Prolattina.

Português. **Precision**: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação. **Linearity**: [1]Diluição, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 em 8. **Recovery**: [1]Solução, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Specificity**: [1]Composto, [2]Quantidade adicionada, [3]Percentagem de reacção cruzada, [4]ND: não detectável. **Method Comparison.** Prolactin: Prolactina.

Deutsch

Prolaktin

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme — zur quantitativen Bestimmung von Prolaktin im Serum, zur Untersuchung und Therapiekontrolle von pituitären Störungen.

Artikelnummern: **L2KPR2** (200 Tests), **L2KPR6** (600 Tests)

Testcode: **PRL** Farbe: **dunkelblau**

Klinische Relevanz

Humanes Prolaktin ist ein Polypeptid-Hormon der vorderen Hypophyse mit einem Molekulargewicht von ca. 22 800. Es ist von essentieller Wichtigkeit in der Produktion von Muttermilch und kann gonadale Funktionen unterdrücken. Die genaue Definition von Prolaktin, als eine vom menschlichen Wachstumhormon zu unterscheidende Substanz, gelang erst 1970. Seit diesem Zeitpunkt, wurde die Bestimmung von Prolaktin ein wichtiges Werkzeug in der Diagnostik der Amenorrhoea, Galactorrhoea und Hypothalamus-, Hypophysendefekte.

Als Referenzwertebereich für zirkulierendes Prolaktin werden in der Literatur Konzentrationen bis annähernd 20 ng/ml vorgeschlagen. Die Konzentrationswerte sind zum Geburtszeitpunkt deutlich erhöht, erniedrigen sich aber auf normale Erwachsenenwerte in weniger als 3 Monate.

Für Frauen werden geringfügig höhere Durchschnittswerte angegeben als für Männer. Mit einem leichten Anstieg während der Pubertät und ein entsprechender Abfall nach der Menopause. Während der Schwangerschaft steigen die Prolaktinwerte beständig bis zum 10- oder 20-fachen der Ausgangswerte an. Nach der Geburt fallen die Werte für nicht stillende Mütter innerhalb 3 Wochen auf ein normales Niveau. Bei stillenden Müttern ist der Rückgang auf normale Werte verzögert, da das Saugen des Kindes zu einem schnellen und dramatischen Anstieg der Prolaktinfreisetzung führt. Frauen die Kontrazeptiva einnehmen bzw. unter Östrogenbehandlung stehen, weisen erhöhte Prolaktinspiegel auf. In der Beurteilung geringfügiger Konzentrationsanstiege sollte immer berücksichtigt werden, daß Prolaktin ein Streßhormon ist.

Nicht allein das Stillen sondern auch geringfügige Eingriffe wie Blutentnahme oder eine Anamnesebefragung, sind als Ursache für kurzfristige Konzentrationserhöhungen registriert worden. Überdies ist die Freisetzung von Prolaktin von Natur aus episodisch. Tag zu Tag Fluktuationen mit Variationskoeffizienten höher als 30 % sind beobachtet worden. Schließlich gibt es schlafabhängige tägliche Variationen: Die Prolaktinkonzentrationen steigen während des Schlafes und erreichen Ihre niedrigsten Werte wenige Stunden nach dem Aufwachen. Die Empfehlung Proben zwischen 9,00 und 12,00 Uhr zu entnehmen, beruht auf der Annahme „normaler“ Aufwachzeiten.

Methodik

Der IMMULITE 2000 Prolaktin ist ein Festphasen, Zwei-phasen Chemilumineszenz immunometrischer Assay.

Inkubationszyklen: 1 × 30 Minuten
Zeit zum ersten Ergebnis: 35 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 Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter 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 Prolaktin ist nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden.

Erforderliche Menge: 25 µl Serum

Lagerung: 7 Tage bei 2–8°C oder 3 Monate bei –20°C.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *in vitro*-Diagnostik.

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.

H412 **P273, P501**	Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Inhalt und Behälter sind in Übereinstimmung mit den gesetzlichen Bestimmungen zu entsorgen. **Enthält:** 2-Methyl-2H-isothiazolin-3-on; Prolaktin Kalibratoren

Reagenzien: Bei 2–8°C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Bestimmten Komponenten wurde Natriumazid (< 0,1 g/dl) hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu verhindern, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

Chemilumineszenz-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.

Prolaktin Kugel-Container (L2PR12)
Der barcodierte Kugel-Container enthält. 200 Kugeln, beschichtet mit Prolaktin-Antikörpern (monoklonal, Maus). Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.
L2KPR2: 1 Container
L2KPR6: 3 Container

Prolaktin Reagenzbehälter (L2PRA2)
11,5 ml mit alkalischer Phospatase konjugierter Anti-Prolaktin-Antikörper (polyklonal, Ziege) mit Konservierungsmittel. Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.
L2KPR2: 1 Behälter
L2KPR6: 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.

Prolaktin Kalibratoren (LPRL, LPRH)
Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) mit lyophilisierten humanem Prolaktin in einer Serum-/Puffer-Matrix. Jedes Fläschchen jeweils mit **2,0 ml** destilliertem bzw. deionisiertem Wasser auflösen und durch leichtes Schwenken mischen. Nach Rekonstituierung 60 Tage bei –20°C, (aliquotiert) haltbar.
L2KPR2: 1 Set **L2KPR6:** 2 Sets

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf röhrchen kleben, so daß die Barcodes vom Barcodereader des Systems gelesen werden können.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

Prolaktin-Probenverdünnung (L2PRZ)
Zur bordeigenen Verdünnung von Proben hoher Konzentration. 25 ml gebrauchsfertiges Konzentrat, das aus einer prolaktin-freien Serum/Puffer Grundsubstanz besteht. Lagerung: 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2PRZ: 3 Etiketten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße
L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm) für die Probenverdünnung
L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Röhrchen; Kontrollen

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Verdünnung, Kalibration, Test- und Qualitätskontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
4 Wochen

Qualitätskontrollseren: Jeweils gültige gesetzlichen Bestimmungen oder Akkreditierungsanforderungen sind bei der Festlegung der Intervalle zur Durchführung der Qualitätskontrollen zu berücksichtigen.

Kontrollen oder Seren mit Prolaktin in zumindest zwei Konzentrationen (niedrige und hohe) verwenden.

Siemens Healthcare Diagnostics empfiehlt die Verwendung von kommerziell verfügbaren Qualitätskontrollen in mindestens 2 Konzentrationen (niedrig und hoch). Der Systembetrieb gilt dann als zufriedenstellend, wenn die Analytwerte innerhalb des für das System zulässigen Kontrollbereichs oder des für die laborinternen Qualitätskontrollverfahren festgelegten zulässigen Bereichs liegen.

Referenzwerte

Basierend auf der Korrelation zum IMMULITE-Prolaktin (siehe *Methoden-vergleich*), sind aus dem Assay folgende Referenzwerte in ng/ml und in mIU/l zu erwarten:

Gruppe	*n*	Median	96%-Bereich
Männer	19	6,2 ng/ml	2,5 – 17
		131 mIU/l	53 – 360

In einer Studie[17] wurde mit dem IMMULITE- Prolaktin Assay folgende Referenzwert ermittelt.

Gruppe	*n*	Median	95%-Bereich
Frauen	115	9,4 ng/ml	1,9 – 25
		199 mIU/l	40 – 530

In einer Multicenter Studie, dargestellt im Technical Report ZB157,[17] wurden etwas höhere Werte beobachtet. Bei dieser Studie wurde eine tägliche Blutabnahme durchgeführt und der Stress einer täglichen Blutentnahme, die durch das Studiendesign notwendig ist, kann zu erhöhten Werten führen.

Für eine altersabhängige Studie wurde in einer "Wellness"-Klinik im Südwesten der USA mit Hilfe des IMMULITE-Prolaktin folgende Werte ermittelt.

			Prolaktin, ng/ml	
Gruppe	Alter (Jahre)	*n*	Median	95%-Bereich
Frauen	Schnur	28	380	200 – 675
	0,1 – 0,5	28	15	1 – 140
	0,6 – 9	55	11	2 – 43
Männer	Schnur	27	295	150 – 565
	0,1 – 0,5	36	19	4 – 65
	0,6 – 9	55	8	0,6 – 29
Kombiniert	Schnur	55	340	160 – 665
	0,1 – 0,5	64	117	2 – 125
	0,6 – 9	110	9	1 – 40

Gruppe	Alter (Jahre)	*n*	Prolaktin, mIU/l Median	95%-Bereich
Frauen	Schnur	28	8056	4240 – 14 310
	0,1 – 0,5	28	318	21 – 2968
	0,6 – 9	55	233	42 – 912
Männer	Schnur	27	6254	3180 – 11 978
	0,1 – 0,5	36	403	85 – 1378
	0,6 – 9	55	170	13 – 615
Kombiniert	Schnur	55	7208	3392 – 14 098
	0,1 – 0,5	64	2480	42 – 2650
	0,6 – 9	110	191	21 – 848

Kinder: Die pädiatrische Referenzbereiche (Kinder und Jugendliche) wurden in Übereinstimmung mit der CLSI-Richtlinie EP28-A3C für den IMMULITE Prolaktin-Test festgelegt.[18] Dazu wurden Proben prospektiv von augenscheinlich gesunden pädiatrischen Probanden entnommen, die unter Anwendung vordefinierter Einschlusskriterien ausgewählt wurden. Referenzwerte für Unterpopulationen wurden basierend auf dem Alter und den Tanner-Stadium-Untergruppen ermittelt, die wiederum auf der physiologischen Entwicklung basierten. Die Studie diente der Ermittlung von Referenzwerten für beide Geschlechter, wobei ungefähr dieselbe Anzahl von weiblichen und männlichen Probanden jeden Alters bzw. aus jeder Tanner-Stadium-Untergruppe in die Studie eingeschlossen werden sollten. Das Tanner-Stadium der Probanden wurde anhand der Schambehaarung sowie des Entwicklungsstadiums der Genitalien bzw. der Brust beurteilt. Die von Neinstein und Kaufmann vorgeschlagene Skala wurde zur Bestimmung des Tanner-Stadiums verwendet.[19]

Die Referenzbereiche und die Tanner-Werte basieren auf einem Mittelwert von 90 % (5. und 95. Perzentil). Bei Probenmengen, die für eine Berechnung des 5. und 95. Perzentils unzureichend waren, werden die beobachteten Mindest- und Höchstwerte entsprechend den Referenzbereichen in den Tabellen aufgeführt.

Pädiatrische Referenzbereiche für IMMULITE 2000/2000 XPi Prolaktin

Männlich

Alter (in Jahren)	*n*	Median	Bereich
		ng/ml	
2 – 3	10	7,8	< 3,5* – > 21,9†
4 – 9	57	6,7	3,1 – 17,3
10 – 16	203	5,8	2,7 – 11,8
17 – 21	37	7,1	4,6 – 15,2
Alter (in Jahren)	*n*	Median	Bereich
		mIU/l	
2 – 3	10	164,3	< 74,2* – > 464,3†
4 – 9	57	142,0	67,2 – 366,1
10 – 16	203	123,0	57,7 – 249,3
17 – 21	37	150,5	96,9 – 322,2

Weiblich

Alter (in Jahren)	*n*	Median	Bereich
		ng/ml	
2 – 3	17	8,0	< 2,8* – > 13,9†
4 – 9	47	6,3	2,7 – 14,3
10 – 12	93	7,0	3,2 – 17,6
13 – 21	127	8,1	3,8 – 22,1
Alter (in Jahren)	*n*	Median	Bereich
		mIU/l	
2 – 3	17	169,6	< 59,4* – > 294,7†
4 – 9	47	133,6	58,1 – 302,7
10 – 12	93	148,4	68,9 – 372,9
13 – 21	127	171,7	80,6 – 467,7

* Der angegebene Wert entspricht dem beobachteten messbaren Mindestwert; Stichprobe zur Berechnung des 5. Perzentils unzureichend.

† Der angegebene Wert entspricht dem beobachteten messbaren Höchstwert; Stichprobe zur Berechnung des 95. Perzentils unzureichend.

Pädiatrische Referenzbereiche für IMMULITE 2000/2000 XPi Prolaktin nach Tanner-Stadium

Männlich

Tanner-Stadium	*n*	Median	Bereich
		ng/ml	
1	73	6,0	3,4 – 17,8
2	64	5,3	2,3 – 11,4
3	63	5,2	3,2 – 11,3
4	59	6,6	2,8 – 15,2
5	48	6,7	4,3 – 13,2

Tanner-Stadium	*n*	Median	Bereich
		mIU/l	
1	73	127,2	70,8 – 377,6
2	64	112,4	48,8 – 242,2
3	63	110,2	67,8 – 238,7
4	59	139,9	59,4 – 322,2
5	48	142,0	91,2 – 280,4

Weiblich

Tanner-Stadium	*n*	Median	Bereich
		ng/ml	
1	73	6,5	2,8 – 17,1
2	47	6,8	3,1 – 19,9
3	65	8,0	3,3 – 17,7
4	47	8,2	3,4 – 22,1
5	52	7,3	3,8 – 21,9

Tanner-Stadium	*n*	Median	Bereich
		mIU/l	
1	73	137,8	59,4 – 361,9
2	47	144,2	67,0 – 422,3
3	65	169,6	69,7 – 375,5
4	47	173,8	72,9 – 467,7
5	52	155,8	81,1 – 464,4

Betrachten Sie diese Grenzwerte nur als *Richtlinien*. Jedes Labor sollte eigene Referenzbereiche ermitteln.

Grenzen der Methode

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 ausgedrückt. (Alle Daten wurden — sofern nicht anders angegeben — aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Umrechnungsfaktor:
ng/ml × 21,2 → mIU/l [3.IS 84/500]

Meßbereich: 0,5–150 ng/ml (10,6–3180 mIU/l) [3rd IS 84/500]

Analytische Sensitivität: 0,5 ng/ml (10,6 mIU/l)

High Dose Hook Effekt: Keiner bis zu 20 500 ng/ml (434 600 mIU/ml)

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Test-ansätzen 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 "Linearität".)

Wiederfindung: Proben wurden mit vier Prolaktinlösungen (190, 356, 928 und 1740 ng/ml) im Verhältnis von 1:19 versetzt. (Siehe Tabelle "Recovery" für representative Daten.)

Spezifität: Der Assay ist für Prolaktin hochspezifisch. (Siehe Tabelle "Specificity".)

Alternativer Probentyp: Eine Untersuchung mit Proben von Probanden, zeigte vergleichbare Ergebnisse für Serum und heparinisiertes Plasma.

Bilirubin: 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 375 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride hat in Konzentrationen bis zu 3000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Methodenvergleich: Der Assay wurde auf der Basis von 148 Patientenproben mit dem IMMULITE-Prolaktin verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 1 bis 140 ng/ml. Siehe Grafik.) Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 1,00 (IML) – 0,96 ng/ml
r = 0,988

Mittelwert:
44 ng/ml (IMMULITE 2000)
45 ng/ml (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Wenden Sie sich an Ihren Händler vor Ort.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485:2003.

Español

IMMULITE 2000 Prolactina

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro* usado con los analizadores IMMULITE 2000 — para la medición cuantitativa de prolactina en suero, como una ayuda en el diagnóstico y tratamiento de las afecciones pituitarias.

Números de Catálogo:
L2KPR2 (200 tests), **L2KPR6** (600 tests)

Código del Test: **PRL** Color: **Azul oscuro**

Resumen y Explicación del Test

La prolactina humana es una hormona polipeptídica de la pituitaria anterior con un peso molecular de 22 800 daltons. Juega un papel esencial en la secrección de la leche y tiene la habilidad de suprimir la función gonadal. La existencia de la prolactina como una sustancia distinta de

la hormona de crecimiento humana fue demostrada en 1970. Desde esa fecha, la determinación de prolactina se ha convertido en una herramienta importante en la investigación de la amenorrea, la galactorrea y las enfermedades hipotalamico-pituitarias.

Como rango de normalidad de la prolactina sérica, las publicaciones sugieren concentraciones hasta aproximadamente 20 ng/ml. Los niveles de prolactina son elevados en el nacimiento y van cayendo hasta los niveles adultos en menos de tres meses.

Las mujeres tienen unos niveles significativamente superiores que los varones, con una elevación en la pubertad — aparentemente relacionada con los estrógenos — y una drástica caida en la menopausia. Durante el embarazo, el nivel de prolactina se eleva entre diez y veinte veces su valor, volviendo a caer por debajo de la normalidad después del parto — en un periodo de tres semanas en mujeres que no dan el pecho. En las que dan el pecho, la caida a los valores normales es más gradual porque la succión induce a la liberación de prolactina. Las mujeres tomando anticonceptivos orales o bajo terapia estrogénica pueden tener niveles de prolactina por encima de lo normal.

Debe tenerse en cuenta el significado de un incremento moderado, ya que la prolactina es una hormona de estrés, elevandose transitoriamente, no solo en procesos quirurgicos, sino tambien en circunstancias menos traumáticas como la venipunción o las pruebas clínicas. Ademas, la secrección de prolactina es pulsátil, habiéndose encontrado fluctuaciones diarias con CVs superiores al 30%. Finalmente, hay una variación diurna relacionada con el sueño: los niveles de prolactina se incrementan durante el sueño y alcanzan su valor más bajo unas horas después de despertarse. La advertencia de tomar las muestras entre las nueve y las doce del mediodía se debe a que se asume que los individuos hace tiempo que están despiertos.

Principio del Test

IMMULITE 2000 Prolactina es un ensayo inmunométrico con dos sitios de unión, quimioluminiscente en fase sólida.

Ciclos de incubación: 1 × 30 minutos
Tiempo hasta el primer resultado: 35 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 centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El prolactina IMMULITE 2000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos.

Volumen Requerido: 25 µl de suero

Conservación: 7 días a 2–8°C, o 3 meses a –20°C.

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.

H412 **P273, P501**	Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. Evitar su liberación al medio ambiente. Eliminar el contenido y el recipiente de acuerdo con las normativas locales, regionales y nacionales. **Contiene:** 2-metil-2H-isotiazol-3-ona; Ajustadores de Prolactina

Reactivos: Mantener a 2–8°C. Desechar de acuerdo con las normas aplicables.

Seguir las precauciones universales y manipular 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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las canerias de cobre y plomo.

Substrato quimioluminiscente: Evitar la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

Agua: Usar agua destilada o desionizada.

Materiales Suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

Cartucho de bolas de Prolactina (L2PR12)
Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpo monoclonal murino anti-prolactina. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KPR2: 1 cartucho
L2KPR6: 3 cartuchos

Vial de reactivo de Prolactina (L2PRA2)
Con códigos de barras. 11,5 ml de fosfatasa alcalina (de intestino de ternera), conjugada con anticuerpo policlonal de cabra anti-prolactina, con conservante. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KPR2: 1 vial **L2KPR6:** 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 Prolactina (LPRL, LPRH)
Dos viales (bajo y alto) de prolactina humana liofilizada en una matriz de suero/solución tampón. Reconstituir cada vial, añadiendo **2,0 ml** de agua destilada o desionizada, y mezclar por inversión suave. Estable por 60 días (alicuotada) después de la reconstitución a –20°C.
L2KPR2: 1 juego **L2KPR6:** 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 muestra de prolactina (L2PRZ)
Para la dilución de muestras de alta concentración dentro del equipo. 25 ml de un concentrado listo para usarse, compuesto de una matriz de suero libre de prolactina en solución tampón. Conservación: 30 días (después de su apetura) a 2–8°C o 6 meses (alicuotado) 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 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2PRZ: 3 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 × 100 mm)
L2ZC: 250 Casquillos Del Tubo Del Diluyente De la Muestra

También necesarios
Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles

Ensayo

Aviso: para obtener un funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:
4 semanas

Muestras de Control de Calidad: Seguir las reglamentaciones gubernamentales o los requisitos de acreditación para conocer la frecuencia de control de calidad.

Utilizar controles o pooles de sueros con al menos dos niveles diferentes de prolactina (bajo y alto).

Siemens Healthcare Diagnostics recomienda el uso de materiales de control de calidad comercializados con al menos 2 niveles (bajo y alto). Un nivel de funcionamiento satisfactorio se consigue cuando los valores obtenidos del analito están dentro del rango de control aceptable para el sistema, o dentro del rango establecido determinado por un programa adecuado de control de calidad interno de laboratorio.

Valores Esperados

Basado en su relación con el IMMULITE Prolactina (ver Método de Comparación), se puede esperar que el ensayo tenga los mismos rangos de referencia, tanto en ng/ml como en mIU/l:

Grupo	*n*	Mediana	Central 96%
Hombres	19	6,2 ng/ml	2,5 – 17
		131 mIU/l	53 – 360

Un estudio[17] usando Prolactina IMMULITE dió lugar a los siguientes resultados.

Grupo	*n*	Mediana	Central 95%
Mujeres	115	9,4 ng/ml	1,9 – 25
		199 mIU/l	40 – 530

Como se resume en el informe técnico ZB157,[17] en un estudio que siguió diariamente a mujeres normales que ovulan durante un ciclo completo, se obtuvieron valores algo mayores, un resultado que es coherente con el cada vez más estresante procedimiento de recogida de muestras implicado por el diseño del estudio.

Un estudio sectorial sobre los valores normales de fertilidad pediátrica llevados a cabo con la Prolactina IMMULITE en indiviuos aparentemente sanos en suroeste de los Estados Unidos dió lugar a los siguientes resultados.

			Prolactina, ng/ml	
Grupo	Edad (años)	*n*	Mediana	Central 95%
Mujeres	Cordón	28	380	200 – 675
	0,1 – 0,5	28	15	1 – 140
	0,6 – 9	55	11	2 – 43
Hombres	Cordón	27	295	150 – 565
	0,1 – 0,5	36	19	4 – 65
	0,6 – 9	55	8	0,6 – 29
Combinado	Cordón	55	340	160 – 665
	0,1 – 0,5	64	117	2 – 125
	0,6 – 9	110	9	1 – 40

			Prolactina, mIU/l	
Grupo	Edad (años)	*n*	Mediana	Central 95%
Mujeres	Cordón	28	8056	4240 – 14 310
	0,1 – 0,5	28	318	21 – 2968
	0,6 – 9	55	233	42 – 912
Hombres	Cordón	27	6254	3180 – 11 978
	0,1 – 0,5	36	403	85 – 1378
	0,6 – 9	55	170	13 – 615
Combinado	Cordón	55	7208	3392 – 14 098
	0,1 – 0,5	64	2480	42 – 2650
	0,6 – 9	110	191	21 – 848

Niños: Los intervalos de referencia de la población pediátrica (niños y adolescentes) para el ensayo IMMULITE Prolactina se establecieron de acuerdo con el documento EP28-A3C[18] del CLSI. Las muestras se obtuvieron de manera prospectiva a partir de sujetos pediátricos aparentemente sanos siguiendo criterios de inclusión predefinidos. Se generaron valores de referencia para subpoblaciones basadas en subgrupos clasificados por edad y etapa de Tanner en función del desarrollo fisiológico. Se ha diseñado el estudio para establecer valores de referencia para ambos géneros, así como para incluir cantidades aproximadamente equivalentes de varones y hembras dentro de cada subgrupo de edad o etapa de Tanner. La etapa de Tanner de cada sujeto se evaluó en función del vello púbico y el desarrollo de los genitales/las mamas. La escala, propuesta por Neinstein y Kaufman, se usó para determinar las etapas de Tanner[19].

Los intervalos de referencia y los valores de Tanner se basaron en el 90% central (percentiles 5 y 95). Si las muestras no tienen un tamaño suficiente para calcular el percentil 5 o 95, se presentan los valores mínimos o máximos observados en las tablas Intervalos de referencia.

Intervalos de referencia de IMMULITE 2000/2000 XPi Prolactina para la población pediátrica

Varones

Edad (años)	*n*	Mediana	Rango
		ng/ml	
2 – 3	10	7,8	< 3,5* – > 21,9†
4 – 9	57	6,7	3,1 – 17,3
10 – 16	203	5,8	2,7 – 11,8
17 – 21	37	7,1	4,6 – 15,2

Edad (años)	*n*	Mediana	Rango
		mUI/l	
2 – 3	10	164,3	< 74,2* – > 464,3†
4 – 9	57	142,0	67,2 – 366,1
10 – 16	203	123,0	57,7 – 249,3
17 – 21	37	150,5	96,9 – 322,2

Hembras

Edad (años)	*n*	Mediana	Rango
		ng/ml	
2 – 3	17	8,0	< 2,8* – > 13,9†
4 – 9	47	6,3	2,7 – 14,3
10 – 12	93	7,0	3,2 – 17,6
13 – 21	127	8,1	3,8 – 22,1

Edad (años)	*n*	Mediana	Rango
		mUI/l	
2 – 3	17	169,6	< 59,4* – > 294,7†
4 – 9	47	133,6	58,1 – 302,7
10 – 12	93	148,4	68,9 – 372,9
13 – 21	127	171,7	80,6 – 467,7

* El valor presentado es el valor mínimo informable observado; tamaño de muestra insuficiente para calcular un límite de percentil 5.

† El valor presentado es el valor máximo observado; tamaño de muestra insuficiente para calcular un límite de percentil 95.

Intervalos de referencia de IMMULITE 2000/2000 XPi Prolactina para la población pediátrica por etapa de Tanner

Varones

Etapa de Tanner	*n*	Mediana	Rango
		ng/ml	
1	73	6,0	3,4 – 17,8
2	64	5,3	2,3 – 11,4
3	63	5,2	3,2 – 11,3
4	59	6,6	2,8 – 15,2
5	48	6,7	4,3 – 13,2

Etapa de Tanner	*n*	Mediana	Rango
		mUI/l	
1	73	127,2	70,8 – 377,6
2	64	112,4	48,8 – 242,2
3	63	110,2	67,8 – 238,7
4	59	139,9	59,4 – 322,2
5	48	142,0	91,2 – 280,4

Hembras

Etapa de Tanner	*n*	Mediana	Rango
		ng/ml	
1	73	6,5	2,8 – 17,1
2	47	6,8	3,1 – 19,9
3	65	8,0	3,3 – 17,7
4	47	8,2	3,4 – 22,1
5	52	7,3	3,8 – 21,9

Etapa de Tanner	*n*	Mediana	Rango
		mUI/l	
1	73	137,8	59,4 – 361,9
2	47	144,2	67,0 – 422,3
3	65	169,6	69,7 – 375,5
4	47	173,8	72,9 – 467,7
5	52	155,8	81,1 – 464,4

Estos límites han de considerarse sólo como una *guía*. Cada Laboratorio deberá establecer sus propios rangos 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 ver 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 × 21,2 → mIU/l [3° IS 84/500]

Rango informable: 0,5–150 ng/ml (10,6–3180 mIU/l) en términos de la 3° IS 84/500

Sensibilidad: 0,5 ng/ml (10,6 mIU/l)

Efecto de gancho a altas dosis:
Ninguno hasta 20 500 ng/ml
(434 600 mIU/l)

Precisión: Las muestras fueron analizadas por duplicado durante 20 días, en dos tandas de trabajo por día, para un total de 40 tandas y 80 replicados. (Ver la tabla de “Precision”.)

Linealidad: Las muestras fueron analizadas en varias diluciones. (Ver la tabla de “Linearity” para resultados representativos.)

Recuperación: Se analizaron muestras sobrecargadas 1 en 19 con cuatro soluciones (190, 356, 928 y 1740 ng/ml) de prolactina. (Ver la tabla de “Recovery” para resultados representativos.)

Especificidad: El ensayo es altamente específico para prolactina. (Ver la tabla de “Specificity”.)

Tipo de Muestra Alternativa: Un estudio *limitado* de muestras equivalentes de voluntarios del laboratorio rindieron resultados comparables para suero y plasma heparinizado.

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina, en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Hemolisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 375 mg/dl,no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Lipemia: La presencia de triglicéridos en concentraciones hasta 3000 mg/dl no tiene efecto alguno en los resultados, en lo correspondiente a la precisión del ensayo.

Comparación del Método: El ensayo fue comparado con el ensayo de IMMULITE Prolactina en 148 muestras de pacientes. (Rango de Concentración: aproximadamente 1 a 140 ng/ml. Ver el gráfico.) Por regresión linear:

(IML 2000) = 1,00 (IML) – 0,96 ng/ml
r = 0,988

Medias:
44 ng/ml (IMMULITE 2000)
45 ng/ml (IMMULITE)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485:2003.

Français

IMMULITE 2000 Prolactine

Domaine d'utilisation : Dosage quantitatif de la prolactine dans le sérum. Ce test est réservé à un usage diagnostic *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000 et constitue une aide au diagnostic et au traitement des divers troubles hypophysaires.

Référence catalogue :
L2KPR2 (200 tests) **L2KPR6** (600 tests)

Code produit : **PRL**
Code couleur : **Bleu foncé**

Introduction

La prolactine humaine est une hormone polypeptidique sécrétée par l'antéhypophyse, d'un poids moléculaire de 22 800 Daltons. Elle joue un rôle essentiel dans la sécrétion du lait et a le pouvoir suppresseur sur les fonctions gonadiques. La prolactine a été reconnue comme hormone distincte de l'hormone de croissance dans les années 1970. Depuis le dosage de la prolactine est devenu un outil important dans la détermination des causes d'aménorrhées, de galactorrhées et des désordres de l'axe hypothalamo-hypophysaire.

Dans la littérature, les valeurs normales de la prolactine circulante vont jusqu'à des concentrations maximales de 20 ng/ml. Les concentrations en prolactine sont élevées à la naissance mais diminuent très vite, en moins de trois mois, jusqu'aux valeurs trouvées chez l'adulte.

Les femmes ont, en moyenne, des valeurs légèrement plus élevées que les hommes. Une légère augmentation de ces valeurs est observée chez la femme à la puberté, apparemment liée aux œstrogènes et une diminution à la ménopause. Pendant la grossesse, le taux de prolactine augmente progressivement pour atteindre 10 à 20 fois sa valeur de base, puis rechute, dans les trois semaines après l'accouchement, vers une valeur normale chez les femmes qui n'allaitent pas. Par contre chez les femmes qui allaitent, la baisse du taux de prolactine est beaucoup plus étalée dans le temps du fait des sécrétions ponctuelles de prolactine induites par les allaitements. Les femmes qui utilisent des contraceptifs oraux ou sous thérapie oestrogénique peuvent avoir des taux de prolactine plus élevés que la normale.

Il est important de ne pas oublier que la prolactine est une hormone du stress, ce qui explique certaines élévations modérées. Des élévations transitoires de l'hormone ont été rapportées non seulement dans un contexte chirurgical mais également par le stress du prélèvement sanguin. De plus la libération de l'hormone est proprement épisodique, avec des fluctuations d'un jour à l'autre allant parfois jusqu'à 30 %. D'autre part, il existe un rythme circadien dans la sécrétion de prolactine : le taux de l'hormone augmente pendant le sommeil et atteint son niveau le plus bas quelques heures après le réveil (Le conseil donné parfois de prélever les échantillons entre 9 heures du matin et midi se base sur l'hypothèse que les patients ont des heures de réveil régulières).

Principe du test

IMMULITE 2000 Prolactine est un dosage chimiluminescent immunométrique, double sites, en phase solide.

Cycles d'incubation : 1 × 30 minutes
Temps de rendu du premier résultat : 35 minutes

Recueil des échantillons

Il est recommandé de clarifier les échantillons hyperlipémiques par ultracentrifugation.

Des échantillons hémolysés peuvent être révélateurs d'un mauvais traitement 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 dûs 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 divers fabricants 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 IMMULITE 2000 Prolactine n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles.

Volume nécessaire : 25 µl de sérum

Conditions de conservation : 7 jours à 2–8°C ou 3 mois à –20°C.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

ATTENTION : Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.

H412 **P273, P501**	Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. Éviter le rejet dans l'environnement. Éliminer les contenus et les contenants conformément à toutes les réglementations locales, régionales et nationales. **Contient :** 2-méthyl-2H-isothiazole-3-one ; Ajusteurs Prolactine

Réactifs : conserver les réactifs à 2–8°C. Eliminer les déchets conformément à la réglementation en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-HCV et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

Substrat chimiluminescent : éviter les contaminations et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

Eau : utiliser uniquement de l'eau distillée ou désionisée.

Matériel fourni

Les composants de la trousse ne peuvent être utilisés que conjointement. Les étiquettes à l'intérieur du coffret sont nécessaires au dosage.

Cartouche de billes Prolactine (L2PR12)
Avec code-barres. 200 billes revêtues d'un anticorps monoclonal murin anti-prolactine, stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KPR2 : 1 cartouche
L2KPR6 : 3 cartouches

Cartouche-Réactif Prolactine (L2PRA2)
Avec code-barres. 11,5 ml d'un réactif composé dun anticorps polyclonal de chèvre anti-prolactine marqué à la phosphatase alcaline, avec conservateur. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KPR2 : 1 cartouche
L2KPR6 : 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 Prolactine (LPRL, LPRH)
2 flacons d'ajusteurs (« bas » et « haut ») de prolactine humaine dans une matrice sérum/tampon, à reconstituer chacun avec **2,0 ml** d'eau distillée, mélanger par retournements sans secouer, stable pendant 60 jours (aliquoté) après reconstitution à –20°C.
L2KPR2 : 1 jeu **L2KPR6 :** 2 jeux

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

Composants du coffret fournis séparément

Diluant échantillon Prolactine (L2PRZ)
Pour la dilution à bord des échantillons de concentration élevée. 25 ml d'un concentré prêt à l'emploi consistant en une matrice sérum/tampon sans prolactine. Stockage: 30 jours (après ouverture) à 2–8°C ou 6 mois (aliquote) à –20°C.

Les étiquttes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 × 100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2PRZ : 3 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 × 100 mm)
L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

Egalement requis
Eau distillée ou désionisée ; tubes en verre ; contrôles

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000.

Voir le Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000 pour la préparation, le démarrage du système, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé :
4 semaines

Echantillons pour le contrôle de qualité :
Suivre les réglementations gouvernementales et les exigences relatives aux accréditations en matière de fréquence de contrôle qualité.

Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) de prolactine.

Siemens Healthcare Diagnostics recommande d'utiliser des échantillons de contrôle de qualité en vente dans le commerce et comprenant au moins 2 niveaux (bas et haut). Un niveau de performance satisfaisant est atteint lorsque les valeurs d'analyte obtenues se situent dans l'intervalle de contrôle acceptable du système ou dans un intervalle déterminé par un schéma de contrôle de qualité approprié interne au laboratoire.

Valeurs attendues

En raison de son étroite corrélation avec le test IMMULITE Prolactine (voir méthode de compraison) les valeur de référence sont identiques à ce dernier.

Groupe	*n*	Médiane	Domaine à 96%
Hommes adultes	19	6,2 ng/ml	2,5 – 17
		131 mUI/l	53 – 360

Une étude[17] effectuée avec le test IMMULITE Prolactine a conduit aux résultats suivants :

Groupe	*n*	Médiane	Domaine à 95%
Femmes adultes	115	9,4 ng/ml	1,9 – 25
		199 mUI/l	40 – 530

Comme résumée dans le bulletin technique ZB157[17], une étude effectuée chez des femmes ayant une ovulation normale et prélevées quotidiennement, a montré des valeurs parfois élevées. Ces valeurs peuvent être dues au stress lors du prélèvement.

Une étude en pédiatrie sur les valeurs de fertilité, réalisée avec le test IMMULITE Prolactine dans une clinique du Sud Ouest des Etats-Unis, a donné les résultats suivants.

			Prolactine, ng/ml	
Groupe	Âge (année)	*n*	Médiane	Central 95%
Femmes	Cordon	28	380	200 – 675
	0,1 – 0,5	28	15	1 – 140
	0,6 – 9	55	11	2 – 43
Hommes	Cordon	27	295	150 – 565
	0,1 – 0,5	36	19	4 – 65
	0,6 – 9	55	8	0,6 – 29
Combiné	Cordon	55	340	160 – 665
	0,1 – 0,5	64	117	2 – 125
	0,6 – 9	110	9	1 – 40

Groupe	Âge (année)	*n*	Prolactine, mUI/l Médiane	Central 95%
Femmes	Cordon	28	8056	4240 – 14 310
	0,1 – 0,5	28	318	21 – 2968
	0,6 – 9	55	233	42 – 912
Hommes	Cordon	27	6254	3180 – 11 978
	0,1 – 0,5	36	403	85 – 1378
	0,6 – 9	55	170	13 – 615
Combiné	Cordon	55	7208	3392 – 14 098
	0,1 – 0,5	64	2480	42 – 2650
	0,6 – 9	110	191	21 – 848

Échantillons pédiatriques : Les intervalles de référence pour la population pédiatrique (enfants et adolescents) ont été définis pour le dosage IMMULITE Prolactine conformément à la directive EP28-A3C du CLSI.[18] Les échantillons ont préalablement été collectés sur des sujets pédiatriques apparemment en bonne santé, en utilisant des critères d'inclusion prédéfinis. Des valeurs de référence ont été obtenues pour les sous-populations en fonction de l'âge et des sous-groupes correspondant aux différents stades de développement physiologique tels que définis par Tanner. L'étude a été conçue en vue de définir des valeurs de référence pour les deux sexes et d'inclure approximativement autant de garçons que de filles au sein de chaque tranche d'âge ou de chaque sous-groupe correspondant à un stade de Tanner. Le classement du patient sur l'échelle de Tanner se fait en fonction du stade de développement des organes génitaux/des seins et des poils pubiens. L'échelle proposée par Neinstein et Kaufman a été utilisée pour déterminer les stades de Tanner.[19]

Les intervalles de référence et les valeurs de Tanner reposent sur l'intervalle de confiance à 90 % (5ème et 95ème percentiles). Quand les tailles d'échantillon étaient insuffisantes pour calculer le 5ème ou le 95ème percentile, les valeurs minimale ou maximale observées sont indiquées dans le tableau des Intervalles de référence.

Intervalles de référence pédiatrique d'IMMULITE 2000/2000 XPi Prolactine

Homme

Âge (années)	*n*	Médiane	Plage
		ng/ml	
2 – 3	10	7,8	< 3,5* – > 21,9†
4 – 9	57	6,7	3,1 – 17,3
10 – 16	203	5,8	2,7 – 11,8
17 – 21	37	7,1	4,6 – 15,2
Âge (années)	*n*	Médiane	Plage
		mIU/l	
2 – 3	10	164,3	< 74,2* – > 464,3†
4 – 9	57	142,0	67,2 – 366,1
10 – 16	203	123,0	57,7 – 249,3
17 – 21	37	150,5	96,9 – 322,2

Femme

Âge (années)	*n*	Médiane	Plage
		ng/ml	
2 – 3	17	8,0	< 2,8* – > 13,9†
4 – 9	47	6,3	2,7 – 14,3
10 – 12	93	7,0	3,2 – 17,6
13 – 21	127	8,1	3,8 – 22,1
Âge (années)	*n*	Médiane	Plage
		mIU/l	
2 – 3	17	169,6	< 59,4* – > 294,7†
4 – 9	47	133,6	58,1 – 302,7
10 – 12	93	148,4	68,9 – 372,9
13 – 21	127	171,7	80,6 – 467,7

*La valeur présentée est la valeur de mesure minimale observée ; taille d'échantillon insuffisante pour calculer une limite de 5ème percentile.

† La valeur présentée est la valeur maximale observée ; taille d'échantillon insuffisante pour calculer une limite de 95ème percentile.

Intervalles de référence pédiatrique d'IMMULITE 2000/2000 XPi Prolactine par score de Tanner

Homme

Stade de Tanner	*n*	Médiane	Plage
		ng/ml	
1	73	6,0	3,4 – 17,8
2	64	5,3	2,3 – 11,4
3	63	5,2	3,2 – 11,3
4	59	6,6	2,8 – 15,2
5	48	6,7	4,3 – 13,2
Stade de Tanner	*n*	Médiane	Plage
		mIU/l	
1	73	127,2	70,8 – 377,6
2	64	112,4	48,8 – 242,2
3	63	110,2	67,8 – 238,7
4	59	139,9	59,4 – 322,2
5	48	142,0	91,2 – 280,4

Femme

Stade de Tanner	*n*	Médiane	Plage
		ng/ml	
1	73	6,5	2,8 – 17,1
2	47	6,8	3,1 – 19,9
3	65	8,0	3,3 – 17,7
4	47	8,2	3,4 – 22,1
5	52	7,3	3,8 – 21,9
Stade de Tanner	*n*	Médiane	Plage
		mIU/l	
1	73	137,8	59,4 – 361,9
2	47	144,2	67,0 – 422,3
3	65	169,6	69,7 – 375,5
4	47	173,8	72,9 – 467,7
5	52	155,8	81,1 – 464,4

Ces valeurs sont fournies *à titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs normales.

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 rares et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en ng/ml. (En l'absence de précision supplémentaire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques prélevés sur tubes sans anticoagulant, ni gel, ni activateur de la coagulation.)

Facteur de conversion :
ng/ml × 21,2 → mUI/l [3ème IS 84/500]

Domaine de mesure : 0,5–150 ng/ml (10,6–3180 mUI/l) par rapport au 3ème IS 84/500

Sensibilité analytique : 0,5 ng/ml (10,6 mUI/l)

Effet-crochet : aucun jusqu'à 20 500 ng/ml (434 600 mUI/l)

Précision : les valeurs ont été établies à partir de doublets dosés dans deux séries différentes chaque jour pendant 20 jours soit au total 40 séries et 80 doublets. (Voir le tableau « Precision ».)

Test de dilution : les échantillons ont été testés avec des taux de dilution variés (Voir le tableau « Linearity » pour des données représentativesl)

Test de récupération Les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec quatre solutions (190, 356, 928 et 1740 ng/ml) de prolactine. (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentativesl)

Spécificité : Le test est hautement spécifique de la prolactine. (Voir le tableau « Specificity ».)

Autres types d'échantillons L'étude en laboratoire d'un nombre *limité* de paires d'échantillons de volontaires a donné des résultats comparables pour le sérum et le plasma hépariné.

Bilirubine : La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage 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 375 mg/dl.

Lipémie : La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 3000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

Comparaison de méthodes Le test a été comparé au test IMMULITE Prolactine sur les échantillons de 148 patients (dont les concentrations allaient d'environ 1 à 140 ng/ml. Voir graphique.) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 1,00 (IML) – 0,96 ng/ml
r = 0,988

Moyennes :
44 ng/ml (IMMULITE 2000)
45 ng/ml (IMMULITE)

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

Le Système Qualité de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. est certifié ISO 13485:2003.

Italiano

Prolattina

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa di prolattina nel siero quale ausilio nella determinazione e nel trattamento di disturbi ipofisari.

Numero di Codice: **L2KPR2** (200 test) **L2KPR6** (600 test)

Codice del Test: **PRL** Colore: **blu scuro**

Riassunto e spiegazione del Test

La prolattina umana è un ormone polipeptidico della ghiandola pituitaria anteriore con una massa molecolare di circa 22 800. Gioca un ruolo essenziale nella secrezione del latte ed ha la capacità di sopprimere la funzione delle gonadi. L'esistenza della prolattina come sostanza distinta dall'ormone della crescita è stata stabilita solo nel 1970. Da quel momento, il dosaggio della prolattina è diventato uno strumento importante nell'indagine dell'amenorrea, galactorrea e dei disturbi ipotalamico-pituitari.

Come range di riferimento per la prolattina in circolo, la letteratura suggerisce concentrazioni fino a circa 20 ng/mL. I valori sono elevati in maniera netta alla nascita, ma declinano a livelli da adulti dopo tre mesi.

Le donne risultano avere livelli medi leggermente più elevati degli uomini, con un lieve innalzamento intorno alla pubertà — apparentemente legato agli estrogeni — ed una corrispondente caduta durante la menopausa. Durante la gravidanza, i livelli di prolattina salgono in maniera notevole da 10 a 20 volte il valore iniziale, quindi scendono a valori normali dopo il parto — entro tre settimane nelle donne che non allattano. Per coloro che allattano, il declino verso valori normali è più graduale a causa del pronto e repentino rilascio indotto dall'allattamento. Le donne che fanno uso di contraccettivi o sono sottoposte a terapia estrogenica possono avere livelli di prolattina più elevati del normale.

Stabilendo la significatività di moderati innalzamenti, è importante tenere presente che la prolattina è un'ormone indotto da situazioni di stress. Non solo la chirurgia, ma eventi fonte di minore stress quali un prelievo o un colloquio clinico hanno fatto registrare un innalzamento momentaneo. Inoltre, è stato riscontrato che il rilascio della prolattina è episodico, e che possono verificarsi fluttuazioni di giorno in giorno con CV del 30%. Infine, esiste una variazione diurna legata al sonno: i livelli di prolattina si innalzano durante il sonno e raggiungono i livelli più bassi poche ore dopo il risveglio. L'avviso di prelevare campioni “tra le nove e

mezzogiono" si basa sulla considerazione che i pazienti osservino un ciclo normale di veglia e sonno.

Principio del Dosaggio

IMMULITE 2000 prolattina è un dosaggio immunometrico in chemiluminescenza in fase solida a doppio sito.

Cicli d'incubazione: 1 × 30 minuti
Tempo al Primo Risultato: 35 minuti

Raccolta del Campione

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

I campioni emolizzati posson 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 prolattina non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette.

Volume richiesto: 25 µL di siero

Conservazione: 7 giorni a 2–8°C o 3 mesi a –20°C.

Avvertenze e Precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale portatore e trasmettitore di agenti patogeni.

H412 **P273, P501**	Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. Non disperdere nell'ambiente. Smaltire il prodotto e il contenitore in conformità con tutte le disposizioni locali, regionali e nazionali. **Contiene:** 2-metil-2H-isotiazol-3-one; Calibratori Prolattina

Reagenti: Conservare i reagenti a 2–8°C. Eliminare in conformità alle leggi pertinenti.

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati dal sangue umano sono stati testati con esito negativo per la sifilide, gli anticorpi anti-HIV 1 e 2, l'antigene di superficie dell'Epatite B e gli anticorpi dell'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 unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

Contenitore di Sferette Prolattina (L2PR12)
Con codice a barre. 200 biglie coattate con un anticorpo monoclonale di ratto anti-prolattina. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KPR2: 1 confezione
L2KPR6: 3 confezioni

Porta Reagente Prolattina (L2PRA2)
Con codice a barre. 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con un anticorpo policlonale di capra anti-prolattina, con conservanti. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KPR2: 1 Porta Reagente
L2KPR6: 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.

Calibratori Prolattina (LPRL, LPRH)
Due flaconi (Basso ed Alto), ciascuno con prolattina umana liofilizzata in una matrice di siero/tampone. Ricostituire ciascun flacone con **2,0 mL** d'acqua distillata o deionizzata, quindi mescolare invertendo delicatamente. Stabile per 60 giorni (aliquotato) dopo la ricostituzione a –20°C.
L2KPR2: 1 set **L2KPR6:** 2 set

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste sulle aliquote (fornite col kit) sulle provette cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore.

I componenti dei kit sono forniti separatamente

Diluente campione di prolattina (L2PRZ)
Per la diluizione interna di campioni ad elevata concentrazione. 25 mL di un concentrato pronto all'uso, composto da matrice di siero/soluzione tampone priva di prolattina. Conservazione: 30 giorni (dopo l'apertura) a 2–8°C oppure 6 mesi (in aliquote) a –20°C.

Vengono Fornite Le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm cosicchè i codici a barre possano essere letti dal lettore interno.
L2PRZ: 3 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 × 100 mm) per Diluente del Campione
L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluente del Campione

Materiali richiesti
Acqua distillata o deionizzata; provette di vetro; controlli

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 4 settimane

Controllo di Qualità: Per la frequenza del controllo di qualità seguire le normative in vigore o i requisiti di accreditamento.

Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (alto e basso) di prolattina.

Siemens Healthcare Diagnostics consiglia l'utilizzo di materiali di controllo della qualità disponibili in commercio con almeno 2 livelli (bassi e alti). Un livello soddisfacente di prestazioni si raggiunge quando i valori dell'analita ottenuti rientrano nei range di accettabilità del Controllo per il sistema o nei range stabiliti all'interno del laboratorio attraverso un programma appropriato di valutazione del controllo di qualità.

Valori Attesi

Data l'affinità con la prolattina IMMULITE (vedi "Confronto di Metodi") ci si attende che il dosaggio abbia gli stessi range di riferimento seguenti in ng/mL e mIU/L:

Gruppo	*n*	Mediana	Centrale 96%
Uomini	19	6,2 ng/mL	2,5 – 17
		131 mIU/L	53 – 360

Uno studio[17] effettuato con il kit IMMULITE Prolattina ha prodotto i seguenti risultati.

Gruppo	*n*	Mediana	Centrale 95%
Donne	115	9,4 ng/mL	1,9 – 25
		199 mIU/L	40 – 530

Come riassunto nel Technical Report codice ZB157,[17] in uno studio effettuato su donne con ciclo ovulatorio normale su base giornaliera e per un intero ciclo ovulatorio, sono stati ottenuti risultati più elevati a causa di un processo di prelievo dei campioni ad elevato stress.

Uno studio inter-disciplinare su valori di fertilità pediatrica effettuato con il kit Prolattina IMMULITE presso una Clinica nel Sud-Ovest degli Stati Uniti ha prodotto i seguenti risultati.

		Prolattina, ng/mL		
Gruppo	Età (anni)	*n*	Mediana	Centrale 95%
Donne	Cordone	28	380	200 – 675
	0,1 – 0,5	28	15	1 – 140
	0,6 – 9	55	11	2 – 43
Uomini	Cordone	27	295	150 – 565
	0,1 – 0,5	36	19	4 – 65
	0,6 – 9	55	8	0,6 – 29
Combinato	Cordone	55	340	160 – 665
	0,1 – 0,5	64	117	2 – 125
	0,6 – 9	110	9	1 – 40

		Prolattina, mIU/L		
Gruppo	Età (anni)	*n*	Median	Centrale 95%
Donne	Cordone	28	8056	4240 – 14 310
	0,1 – 0,5	28	318	21 – 2968
	0,6 – 9	55	233	42 – 912
Uomini	Cordone	27	6254	3180 – 11 978
	0,1 – 0,5	36	403	85 – 1378
	0,6 – 9	55	170	13 – 615
Combinato	Cordone	55	7208	3392 – 14 098
	0,1 – 0,5	64	2480	42 – 2650
	0,6 – 9	110	191	21 – 848

Popolazione pediatrica: Sono stati stabiliti gli intervalli di riferimento per la popolazione pediatrica (bambini e adolescenti) per il dosaggio IMMULITE Prolattina in conformità alle linee guida CLSI EP28-A3C.[18] I campioni sono stati raccolti in modo prospettico da soggetti pediatrici apparentemente sani, utilizzando criteri di inclusione predefiniti. I valori di riferimento sono stati generati per le sottopopolazioni sulla base di sottogruppi suddivisi per età e stadio di Tanner sulla base dello sviluppo fisiologico. Lo studio è stato sviluppato per determinare i valori di riferimento tra la popolazione maschile e femminile, al fine di includere un numero indicativamente pari di uomini e donne all'interno di ciascun sottogruppo per età o stadio di Tanner. Lo stadio di Tanner del soggetto è stato valutato sulla base della peluria pubica e dello sviluppo dei genitali/del seno. La scala proposta da Neinstein and Kaufman è stata utilizzata per determinare gli stadi di Tanner.[19]

Gli intervalli di riferimento e i valori relativi allo stadio di Tanner si basano sul 90% centrale (5° e 95° percentile). Laddove il numero di campioni non è stato sufficiente per poter effettuare il calcolo del 5° o 95° percentile, vengono indicati i valori massimo e minimo osservati nelle tabelle Intervalli di riferimento.

Intervalli di riferimento pediatrici di IMMULITE 2000/2000 XPi Prolattina

Maschi

Età (anni)	*n*	Mediana	Intervallo
		ng/mL	
2 – 3	10	7,8	< 3,5* – > 21,9†
4 – 9	57	6,7	3,1 – 17,3
10 – 16	203	5,8	2,7 – 11,8
17 – 21	37	7,1	4,6 – 15,2

Età (anni)	*n*	Mediana	Intervallo
		mIU/L	
2 – 3	10	164,3	< 74,2* – > 464,3†
4 – 9	57	142,0	67,2 – 366,1
10 – 16	203	123,0	57,7 – 249,3
17 – 21	37	150,5	96,9 – 322,2

Femmine

Età (anni)	*n*	Mediana	Intervallo
		ng/mL	
2 – 3	17	8,0	< 2,8* – > 13,9†
4 – 9	47	6,3	2,7 – 14,3
10 – 12	93	7,0	3,2 – 17,6
13 – 21	127	8,1	3,8 – 22,1

Età (anni)	*n*	Mediana	Intervallo
		mIU/L	
2 – 3	17	169,6	< 59,4* – > 294,7†
4 – 9	47	133,6	58,1 – 302,7
10 – 12	93	148,4	68,9 – 372,9
13 – 21	127	171,7	80,6 – 467,7

*È indicato il valore minimo refertabile osservato; dimensione dei campioni insufficiente per il calcolo di un limite del 5° percentile.

† È indicato il valore massimo osservato; numero di campioni insufficiente per il calcolo del limite del 95° percentile.

Intervalli di riferimento pediatrici di IMMULITE 2000/2000 XPi Prolattina per stadio di Tanner

Maschi

Stadio di Tanner	*n*	Mediana	Intervallo
		ng/mL	
1	73	6,0	3,4 – 17,8
2	64	5,3	2,3 – 11,4
3	63	5,2	3,2 – 11,3
4	59	6,6	2,8 – 15,2
5	48	6,7	4,3 – 13,2

Stadio di Tanner	*n*	Mediana	Intervallo
		mIU/L	
1	73	127,2	70,8 – 377,6
2	64	112,4	48,8 – 242,2
3	63	110,2	67,8 – 238,7
4	59	139,9	59,4 – 322,2
5	48	142,0	91,2 – 280,4

Femmine

Stadio di Tanner	*n*	Mediana	Intervallo
		ng/mL	
1	73	6,5	2,8 – 17,1
2	47	6,8	3,1 – 19,9
3	65	8,0	3,3 – 17,7
4	47	8,2	3,4 – 22,1
5	52	7,3	3,8 – 21,9

Stadio di Tanner	*n*	Mediana	Intervallo
		mIU/L	
1	73	137,8	59,4 – 361,9
2	47	144,2	67,0 – 422,3
3	65	169,6	69,7 – 375,5
4	47	173,8	72,9 – 467,7
5	52	155,8	81,1 – 464,4

Detti valori dovrebbero essere considerati solo come *suggerimento*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

Limiti

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi *in vitro*. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34: 27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedi tavole e grafici per i dati *rappresentativi*. I risultati sono indicati in ng/mL. (Laddove non diversamente specificato, tutti i dati sono stati generati su campioni di siero raccolti in provette senza gel separatore o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.)

Fattore di Conversione:
ng/mL × 21,2 → mIU/L [3rd IS 84/500]

Range di Riferimento: 0,5–150 ng/mL (10,6–3180 mIU/L) in termini di terzo IS 84/500

Sensibilità analitica: 0,5 ng/mL (10,6 mIU/L)

Effetto Aggancio per Dosi Elevate: Nessuno fino a 20 500 ng/mL (434 600 mIU/L)

Precisione: Sono stati dosati campioni in doppio in 20 giorni, due sedute al giorno, per un totale di 40 sedute ed 80 replicati. (Vedi la Tabella "Precision".)

Linearità: Sono stati dosati campioni in varie forme diluite. (Vedi la Tabella "Linearity" per dati rappresentantivi.)

Recupero: Sono stati dosati campioni campioni ai quali sono state aggiunte quattro soluzioni di prolattina (190, 356, 928 e 1740 ng/mL) 1:19. (Vedi la Tabella "Recovery" per dati rappresentantivi.)

Specificità: Il dosaggio è estremamente specifico per la prolattina. (Vedi la Tabella "Specificity".)

Tipo di campione alternativo: Uno studio *limitato* di campioni accoppiati

ottenuti da volontari di laboratorio ha prodotto dei risultati paragonabili per il siero ed il plasma eparinizzato.

Bilirubina: La presenza di bilirubina in concentrazioni fino a 200 mg/L non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Emolisi: La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 375 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Lipemia: La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 3000 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Confronto di Metodi: Il dosaggio è stato comparato al dosaggio Prolattina IMMULITE su 148 campioni di pazienti. (Range di concentrazione: da 1 fino a 140 ng/mL. Vedi grafico.) Con regressione lineare:

(IML 2000) = 1,00 (IML) – 0,96 ng/mL
r = 0,988

Valor medio:
44 ng/mL (IMMULITE 2000)
45 ng/mL (IMMULITE)

Assistenza Tecnica

Contattare il distributore nazionale.

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485:2003.

Português

Prolactina

Utilização: Para o doseamento da prolactina em soro, em conjunto com os Analisadores dos Sistemas IMMULITE 2000, para o diagnóstico *in vitro* e seguimento terapêutico de alterações pituitárias.

Números de catálogo: **L2KPR2** (200 testes) **L2KPR6** (600 testes)

Código do teste: **PRL** Cor: **Azul escuro**

Sumário e explicação do teste

A prolactina humana é uma hormona polipeptídica da pituitária anterior com um peso molecular de aproximadamente 22 800 D. Desempenha um papel principal na secrecção do leite materno e tem a capacidade de suprimir a função gonadal. A existência real da prolactina como uma substância distinta da hormona de crescimento humana, só foi estabelecida em 1970. Desde aí, a determinação da prolactina tem-se tornado uma ferramenta importante na investigação da amnorreia, galactorreia e desordens hipotalâmica – pituitária.

A literatura sugere, como dado de referência da prolactina circulante, concentrações aproximadamente acima de 20 ng/mL. Estes valores são distintamente elevados à nascença mas decaem para valores de adulto em menos de 3 meses.

Os valores médios de prolactina apresentam-se normalmente em valores ligeiramente superiores na mulher que no homem, com uma leve subida na puberdade — aparentemente relacionada com o estrogéneo — e correspondente descida na menopausa. Durante a gravidez, os valores da prolactina aumentam 10 a 20 vezes, voltando ao normal após o parto — num prazo de 3 semanas para as mães que não amamentam. Para as mães que amamentam, o declínio para o normal é gradual devido à secreção em pulsos rápidos e dramáticos induzida pelo aleitamento. Os níveis de prolactina também poderão surgir mais altos que o normal em mulheres sob terapia com estrogéneos ou usando contraceptivos orais.

Relativamente ao significado das elevações moderadas, é importante ter em atenção que a prolactina é uma hormona de stress. Também poderão ocasionar aumentos transitórios não só a cirurgia, mas também a punção venosa ou uma outra intervenção clínica não muito invasiva. No entanto, a libertação da prolactina é inerentemente episódica, e diariamente apresenta flutuações com CV's próximos de 30%. Finalmente, encontram-se variações diárias com o sono: os valores da prolactina aumentam durante o sono e atingem os seus valores mínimos poucas horas após o despertar. Visto isto, e uma vez que os indivíduos em geral acordam aproximandamente à mesma hora, sugere-se que as amostras

para o doseamento da prolactina sejam recolhidas entre as 9h:00 e as 12h:00.

Princípio do procedimento

A Prolactina IMMULITE 2000 é um ensaio imunométrico em fase sólida quimioluminescente de duas voltas.

Ciclos de incubação: 1 × 30 minutos
Tempo para o Primeiro Resultado: 35 minutos

Colheita

Para clarear amostras lipémicas recomenda-se a ultra-centrifugação.

Amostras hemolisadas podem indiciar 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 de sangue, de fabricantes diferentes, podem originar diferentes valores, dependendo dos materiais e aditivos, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti-coagulantes. IMMULITE 2000 Prolactina não foram ainda testados com todas as variações possíveis originadas pelos tipos de tubos.

Volume de amostra: 25 µL de soro

Estabilidade: 7 dias a 2–8°C, ou 3 meses a –20°C.

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.

H412 **P273, P501**	Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. Evitar a libertação para o ambiente. Eliminar o conteúdo e o recipiente em conformidade com todos os regulamentos locais, regionais e nacionais. **Contém:** 2-metil-2H-isotiazol-3-ona; Ajustes de Prolactina

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, dando 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).

Água: Utilize água destilada ou desionizada.

Materiais fornecidos

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. As etiquetas no interior das caixas são necessárias para o ensaio.

Embalagem de pérolas de Prolactina (L2PR12)
Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com anticorpo monoclonal de rato anti-prolactina. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KPR2: 1 embalagem
L2KPR6: 3 embalagens

Embalagem de reagentes de Prolactina (L2PRA2)
Com código de barras. Contém 11,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de

vitela) conjugado com anticorpo policlonal de cabra anti-prolactina, com conservante. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KPR2: 1 embalagem
L2KPR6: 3 embalagens

Antes de utilizar, retire a parte superior da etiqueta na perfuração, sem danificar o código de barras. Remova o selo de alumínio do topo da embalagem, e encaixe a tampa deslizante nas rampas da tampa do reagente.

Ajustes de Prolactina (LPRL, LPRH)
Contém dois frascos (nível alto e baixo) de prolactina humana liofilizada numa matriz humana tamponada. Reconstituir cada frasco adicionando **2,0 mL** de água destilada ou desionizada, e misturar através de inversão gentil. Estável por 60 dias (em alíquotas) após reconstituição a –20°C.
L2KPR2: 1 conjunto
L2KPR6: 2 conjuntos

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas de alíquota apropriadas (fornecidas com o "kit") em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Diluente de Amostra Prolactina (L2PRZ)
Para diluição de amostras no aparelho. 25 mL de concentrado pronto para uso, consistindo de matriz em tampão de soro livre de prolactina. Estabilidade: 30 dias (após abrir) a 2–8°C ou 6 meses (em alíquotas) a –20°C.

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2PRZ: 3 etiquetas

L2SUBM: Substrato quiomioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Kit de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)
L2ZT: 250 Tubos de diluente da amostra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

Também necessário
Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos

Procedimento de doseamento

Ter em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000.

Consultar o Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000 relativamente aos procedimentos de preparação, diluição, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável:
4 semanas

Amostras de controlo de qualidade:
Observe os regulamentos governamentais ou os requisitos de acreditação quanto à frequência do controlo de qualidade.

Utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de prolactina.

A Siemens Healthcare Diagnostics recomenda a utilização de materiais de controlo de qualidade comercialmente disponíveis com pelo menos 2 níveis (baixo e alto). É alcançado um nível de desempenho satisfatório quando os valores dos analitos obtidos estiverem dentro dos Limites de Controlo Aceitáveis para o sistema ou dentro dos limites estabelecidos e determinados pelo regime de controlo de qualidade laboratorial interno adequado.

Valores de Referência

Baseado na sua relação com a Prolactina IMMULITE (ver comparação de métodos), pode-se esperar que o doseamento tenha valores de referência idênticos, em termos de ng/mL e mIU/L:

Grupo	*n*	Mediano	Central 96%
Homens	19	6,2 ng/mL	2,5 – 17
		131 mIU/L	53 – 360

Um estudo[17] realizado com a Prolactina IMMULITE forneceu os seguintes resultados:

Grupo	*n*	Mediano	Central 95%
Mulheres	115	9,4 ng/mL	1,9 – 25
		199 mIU/L	40 – 530

Conforme sumarizado no boletim técnico ZB157[17], num estudo em que foram seguidas mulheres com ovulação normal, numa base diária, até um ciclo completo, alguns valores mais elevados foram obtidos relacionados com o aumento do stress no processo de colheita de amostras de acordo com o estudo proposto.

Um estudo cruzado de valores de fertilidade pediátricos realizado com o Prolactina IMMULITE numa clínica de "parto" no sudoeste dos E.U.A., forneceu os seguintes resultados.

			Prolactina, ng/mL	
Grupo	Idade (anos)	*n*	Mediana	Central 95%
Mulheres	Cordão	28	380	200 – 675
	0,1 – 0,5	28	15	1 – 140
	0,6 – 9	55	11	2 – 43
Homens	Cordão	27	295	150 – 565
	0,1 – 0,5	36	19	4 – 65
	0,6 – 9	55	8	0,6 – 29
Combinado	Cordão	55	340	160 – 665
	0,1 – 0,5	64	117	2 – 125
	0,6 – 9	110	9	1 – 40

			Prolactina, mIU/L	
Grupo	Idade (anos)	*n*	Mediana	Central 95%
Mulheres	Cordão	28	8056	4240 – 14 310
	0,1 – 0,5	28	318	21 – 2968
	0,6 – 9	55	233	42 – 912
Homens	Cordão	27	6254	3180 – 11 978
	0,1 – 0,5	36	403	85 – 1378
	0,6 – 9	55	170	13 – 615
Combinado	Cordão	55	7208	3392 – 14 098
	0,1 – 0,5	64	2480	42 – 2650
	0,6 – 9	110	191	21 – 848

Pediátrico: Os intervalos de referência da população pediátrica (crianças e adolescentes) para o ensaio Prolactina IMMULITE foram estabelecidos de acordo com a norma EP28-A3C do CLSI[18]. As amostras de indivíduos pediátricos aparentemente saudáveis foram colhidas de forma prospectiva utilizando critérios de inclusão predefinidos. Foram gerados valores de referência para subpopulações baseadas na faixa etária e no estádio de Tanner conforme o desenvolvimento fisiológico. O estudo foi concebido para estabelecer valores de referência para ambos os géneros e incluir números aproximadamente equivalentes de indivíduos do sexo masculino e feminino de cada faixa etária ou estádio de Tanner. O estádio de Tanner do indivíduo foi avaliado com base no desenvolvimento de pêlos púbicos e dos órgãos genitais/seios. A escala proposta por Neinstein e Kaufman foi utilizada na determinação dos estádios de Tanner[19].

Os intervalos de referência e os valores de Tanner baseiam-se nos 90% centrais (percentis 5 e 95). Nos casos em que os tamanhos de amostra eram insuficientes para calcular o percentil 5 ou 95, o valor mínimo ou máximo observado é apresentado nas tabelas de Intervalos de referência.

Intervalos de referência pediátricos do Prolactina IMMULITE 2000/2000 XPi

Masculino

Idade (anos)	*n*	Mediana	Intervalo
		ng/mL	
2 – 3	10	7,8	< 3,5* – > 21,9†
4 – 9	57	6,7	3,1 – 17,3
10 – 16	203	5,8	2,7 – 11,8
17 – 21	37	7,1	4,6 – 15,2
Idade (anos)	*n*	Mediana	Intervalo
		mUI/L	
2 – 3	10	164,3	< 74,2* – > 464,3†
4 – 9	57	142,0	67,2 – 366,1
10 – 16	203	123,0	57,7 – 249,3
17 – 21	37	150,5	96,9 – 322,2

Feminino

Idade (anos)	*n*	Mediana	Intervalo
		ng/mL	
2 – 3	17	8,0	< 2,8* – > 13,9†
4 – 9	47	6,3	2,7 – 14,3
10 – 12	93	7,0	3,2 – 17,6
13 – 21	127	8,1	3,8 – 22,1
Idade (anos)	*n*	Mediana	Intervalo
		mUI/L	
2 – 3	17	169,6	< 59,4* – > 294,7†
4 – 9	47	133,6	58,1 – 302,7
10 – 12	93	148,4	68,9 – 372,9
13 – 21	127	171,7	80,6 – 467,7

*O valor apresentado é o valor mínimo reportável observado; tamanho da amostra insuficiente para calcular um limite de percentil 5.

† O valor apresentado é o valor máximo reportável observado; tamanho da amostra insuficiente para calcular um limite de percentil 95.

Intervalos de referência pediátricos do Prolactina IMMULITE 2000/2000 XPi por estádio de Tanner

Masculino

Estádio de Tanner	*n*	Mediana	Intervalo
		ng/mL	
1	73	6,0	3,4 – 17,8
2	64	5,3	2,3 – 11,4
3	63	5,2	3,2 – 11,3
4	59	6,6	2,8 – 15,2
5	48	6,7	4,3 – 13,2
Estádio de Tanner	*n*	Mediana	Intervalo
		mUI/L	
1	73	127,2	70,8 – 377,6
2	64	112,4	48,8 – 242,2
3	63	110,2	67,8 – 238,7
4	59	139,9	59,4 – 322,2
5	48	142,0	91,2 – 280,4

Feminino

Estádio de Tanner	*n*	Mediana	Intervalo
		ng/mL	
1	73	6,5	2,8 – 17,1
2	47	6,8	3,1 – 19,9
3	65	8,0	3,3 – 17,7
4	47	8,2	3,4 – 22,1
5	52	7,3	3,8 – 21,9
Estádio de Tanner	*n*	Mediana	Intervalo
		mUI/L	
1	73	137,8	59,4 – 361,9
2	47	144,2	67,0 – 422,3
3	65	169,6	69,7 – 375,5
4	47	173,8	72,9 – 467,7
5	52	155,8	81,1 – 464,4

Estes valores devem ser considerados apenas como *directrizes*. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores.

Limitações

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 de 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 × 21,2 → mIU/L [3rd IS 84/500]

Zona de Trabalho: 0,5–150 ng/mL (10,6–3180 mIU/L) de termos do 3rd IS 84/500

Sensibilidade Analítica: 0,5 ng/mL (10,6 mIU/L)

Efeito Hook de Alta Dose: Nenhum até 20 500 ng/mL (434 600 mIU/L)

Precisão: As amostras foram doseadas em duplicado durante 20 dias, 2 ensaios por dia, perfazendo um total de 40 ensaios e 80 réplicas. (Ver a tabela de "Precision".)

Linearidade: As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. (Ver a tabela de "Linearity" para dados representativos.)

Recuperação: O doseamento foi comparado em amostras adicionadas de 1-para-19 com quatro soluções (190, 356, 928 e 1740 ng/mL) de prolactina antes do doseamento. (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

Especificidade: O doseamento é específico para prolactina. (Ver tabela de "Specificity".)

Tipo de amostra alternativa: Um estudo limitado de amostras combinadas de voluntários de laboratório produziu resultados comparáveis para soro e plasma heparinizado.

Bilirrubina: A presença de bilirrubina em concentrações até 200 mg/L não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Hemolise: A presença de hemoglobina em concentrações até 375 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipemia: A presença de triglicéridos em concentrações até 3000 mg/dL não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Comparação de métodos: O doseamento foi comparado com a Prolactina IMMULITE em amostras de 148 doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 1 a 140 ng/mL. Ver gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 1,00 (IML) – 0,96 ng/mL
r = 0,988

Médias:
44 ng/mL (IMMULITE 2000)
45 ng/mL (IMMULITE)

Assistência Técnica

Contacte o seu distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485:2003.

IMMULITE is a trademark of
Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2015 Siemens Healthcare Diagnostics.
All rights reserved.

Made in: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

2017-09-27

PIL2KPR – 23

Changes in this Edition:

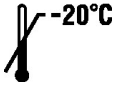
cc#EU23186: 1) In Expected Values, added Pediatric information. 2) Added Pediatric references. 3) Updated Technical Assistance.

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants

peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol	Definition
IVD	**En:** *In vitro* diagnostic medical device **De:** Medizinisches Gerät zur *In-vitro* Diagnose **Es:** Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro* **Fr:** Dispositif médical de diagnostic *in vitro* **It:** Dispositivo medico per diagnostica *in vitro* **Pt:** Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
REF	**En:** Catalog Number **De:** Katalognummer **Es:** Número de referencia **Fr:** Numéro de référence catalogue **It:** Codice catalogo **Pt:** Número de catálogo
	**En:** Manufacturer **De:** Hersteller **Es:** Fabricante **Fr:** Fabricant **It:** Produttore **Pt:** Fabricante
EC REP	**En:** Authorized Representative in the European Community **De:** Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union **Es:** Representante autorizado en la Unión Europea **Fr:** Représentant agréé pour l'Union européenne **It:** Rappresentante autorizzato nella Comunità europea **Pt:** Representante Autorizado na Comunidade Europeia
CE	**En:** CE Mark **De:** CE-Kennzeichen **Es:** Marca CE **Fr:** Marque CE **It:** Marchio CE **Pt:** Marca CE
CE 0088	**En:** CE Mark with identification number of notified body **De:** CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle **Es:** Marca CE con número de identificación del organismo notificado **Fr:** Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié **It:** Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato **Pt:** Marca CE, com número de identificação do organismo notificado
	**En:** Consult instructions for use **De:** Bedienungshinweise beachten **Es:** Consulte las instrucciones de uso **Fr:** Consulter le mode d'emploi **It:** Consultare le istruzioni per l'uso **Pt:** Consulte as instruções de utilização
	**En:** Caution! Potential Biohazard **De:** Vorsicht! Biologisches Risikomaterial **Es:** ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial **Fr:** Avertissement ! Risque biologique potentiel **It:** Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico **Pt:** Atenção! Potenciais Riscos Biológicos
	**En:** Temperature limitation (2–8°C) **De:** Temperaturgrenze (2–8°C) **Es:** Limitación de temperatura (2–8°C) **Fr:** Limites de température (2–8°C) **It:** Limiti di temperatura (2–8°C) **Pt:** Limites de temperatura (2–8°C)
	**En:** Upper limit of temperature (≤ -20°C) **De:** Obere Temperaturgrenze (≤ -20°C) **Es:** Límite superior de temperatura (≤ -20°C) **Fr:** Limite supérieure de température (≤ -20°C) **It:** Limite superiore di temperatura (≤ -20°C) **Pt:** Limite máximo de temperatura (≤ -20°C)

Symbol Definition



En: Lower limit of temperature (≥ 2°C)
De: Mindesttemperatur (≥ 2°C)
Es: Límite inferior de temperatura (≥ 2°C)
Fr: Limite inférieure de température (≥ 2°C)
It: Limite inferiore di temperatura (≥ 2°C)
Pt: Limite mínimo de temperatura (≥ 2°C)



En: Do not freeze (> 0°C)
De: Nicht einfrieren (> 0°C)
Es: No congelar (> 0°C)
Fr: Ne pas congeler (> 0°C)
It: Non congelare (> 0°C)
Pt: Não congelar (> 0°C)



En: Do not reuse
De: Nicht zur Wiederverwendung
Es: No reutilizar
Fr: Ne pas réutiliser
It: Non riutilizzare
Pt: Não reutilizar



En: Keep away from sunlight
De: Vor Sonneneinstrahlung schützen
Es: Proteger de la luz solar
Fr: Maintenir hors de portée de la lumière du soleil
It: Non esporre alla luce del sole
Pt: Manter afastado da luz solar



En: Batch code
De: Chargenbezeichnung
Es: Número de lote
Fr: Numéro de code du lot
It: Codice lotto
Pt: Código de lote



En: Contains sufficient for (n) tests
De: Es reicht für (n) Tests
Es: Contiene suficiente para (n) pruebas
Fr: Contient du matériel suffisant pour (n) tests
It: Contiene materiale sufficiente per (n) test
Pt: Contém o suficiente para (n) testes

2008-01

En: Date format (year-month)
De: Datumsformat (Jahr-Monat)
Es: Formato de fecha (año-mes)
Fr: Format de la date (année-mois)
It: Formato data (anno-mese)
Pt: Formato de data (ano-mês)

Symbol Definition



En: Use by
De: Verwendbar bis
Es: Fecha de caducidad
Fr: A utiliser avant
It: Usare entro
Pt: Usar até



En: Health Hazard
De: Gesundheitsgefährdung
Es: Peligro para la salud
Fr: Dangereux pour la santé
It: Pericolo per la salute
Pt: Perigo para a saúde



En: Exclamation Mark
De: Ausrufezeichen
Es: Signo de exclamación
Fr: Point d'exclamation
It: Punto esclamativo
Pt: Ponto de exclamação



En: Corrosion
De: Korrosion
Es: Corrosión
Fr: Corrosion
It: Corrosione
Pt: Corrosão



En: Skull and Crossbones
De: Totenkopf mit gekreuzten Knochen
Es: Calavera y tibias cruzadas
Fr: Tête de mort sur tibias croisés
It: Teschio e tibie incrociate
Pt: Caveira sobre tíbias cruzadas



En: Environment
De: Umwelt
Es: Medio ambiente
Fr: Environnement
It: Ambiente
Pt: Ambiente



En: Bead Pack
De: Kugel-Container
Es: Cartucho de bolas
Fr: Cartouche de billes
It: Contenitore di biglie
Pt: Embalagem de esferas



En: Test Unit
De: Testeinheit
Es: Unidades de análisis
Fr: Unité de test
It: Test Unit
Pt: Unidades de Teste

Symbol	Definition
REAG WEDGE REAG WEDGE A REAG WEDGE B REAG WEDGE D	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL CONTROL 1 CONTROL 2 CONTROL 3	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo

Symbol	Definition
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol

Symbol	Definition
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

PSA

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 PSA

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the quantitative measurement of prostate-specific antigen (PSA) in human serum, as an aid in the detection of prostate cancer when used in conjunction with digital rectal examination (DRE) in men aged 50 years or older. This assay is further indicated as an adjunctive test to aid in the management of prostate cancer patients.

Catalog Number: **L2KPS2** (200 tests)
L2KPS6 (600 tests)

Test Code: **PSA** Color: **Brown**

> The concentration of PSA in a given specimen determined with different assays can vary due to differences in assay methods and reagent specificity. The results reported by the laboratory to the physician must include the identity of the assay used. Values obtained with different PSA assays cannot be used interchangeably. Before changing assays, the laboratory must confirm the baseline values for patients being serially monitored.

Summary and Explanation

Prostate specific antigen (PSA) first identified and characterized by Wang et al in 1979 is a glycoprotein monomer with protease activity.[1,2] PSA has an isoelectric point of approximately 6.9 and a molecular weight of approximately 33–34 kilodaltons containing approximately 10% carbohydrate by weight.[1,2] Subsequently the amino acid sequence of PSA was reported,[3] and the gene has been cloned.[4] PSA is biochemically and immunologically distinct from PAP and does not exhibit enzymatic phosphatase activity.[5]

PSA is localized in the cytoplasm of prostatic ductal epithelium and in secretions of the ductal lumina.[6] Because PSA is a secretory protein of the prostate, it can be recovered and purified both from prostatic tissue and from seminal plasma.[7] PSA has been found to be primarily associated with prostate tissue, and elevated serum PSA has been found in patients with prostate cancer, benign prostatic hypertrophy, and inflammatory conditions of other adjacent genitourinary tissues but not in healthy men, men with nonprostatic carcinoma, healthy women or women with cancer.[5,8]

Serum PSA alone is not suitable as a screen for prostate cancer because elevated PSA concentrations are also observed in patients with benign prostatic hypertrophy (BPH)[8]; nor is it recommended as a guide in disease staging. The combination of PSA measurement and rectal examination with ultrasonography in the event of abnormal findings may provide a better method of detecting prostate cancer than rectal examination alone. Measurement of PSA offers several advantages over digital rectal examination or ultrasonography in detecting prostate cancer: the result is objective, quantitative, and obtained independent of the examiner's skill, and the procedure is more acceptable to patients than other procedures.[9]

PSA determinations can be useful in detecting metastatic or persistent disease in patients following surgical or medical treatment of prostate cancer.[10,11] Persistent elevation of PSA following treatment or an increase in the pretreatment PSA concentrations is indicative of recurrent or residual disease.[12-16] Hence PSA is widely accepted as an aid in the management of prostate cancer patients.[12-16] Concurrent measurement of PAP may contribute additional information.[17]

The American Cancer Society has recommended that both the PSA blood test and digital rectal examination be offered annually, beginning at age 50, to men who have at least a 10-year life expectancy, as well as younger men who are at high risk. Patients should be given information regarding potential risks and benefits of early detection and treatment. Men in high risk groups, such as those with two or more affected first-degree

relatives may consider screening at a younger age, perhaps 45.[27]

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 PSA is a solid-phase, chemiluminescent immunometric assay.

The solid phase (bead) is coated with goat anti-PSA polyclonal antibody. Patient sample and the reagent are incubated together with the bead coated with anti-PSA polyclonal antibody. PSA in the patient sample is bound to the alkaline phosphatase (bovine calf intestine)–conjugated murine anti-PSA monoclonal antibody and the PSA antibody on the bead to form an antibody-sandwich complex. Unbound enzyme conjugate is then removed by a centrifugal wash. Finally, chemiluminescent substrate is added to the bead and signal is generated in proportion to the bound enzyme.

Incubation Cycles: 1 × 30 minutes

Specimen Collection

Samples should be obtained before biopsy, prostatectomy or prostatic massage, since manipulation of the prostate gland may lead to elevated PSA levels persisting for up to 3 weeks.[18]

Studies have shown conflicting results on the existence of an effect of digital rectal examination on PSA level.[19,20] Therefore, when possible, obtain PSA samples before digital rectal examination.

EDTA plasma is not recommended for use.

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 PSA has not been tested with all possible variations of tube types.

Volume Required: 10 µL serum

Storage: 48 hours at 2–8°C or for longer at –20°C.[21]

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.



CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD
Contains human source material. Each donation of human blood or blood component was tested by FDA-approved methods for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) as well as for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis C virus (HCV). The test results were negative (not repeatedly reactive). No test offers complete assurance that these or other infectious agents are absent; this material should be handled using good laboratory practices and universal precautions.[28-30]

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.

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. The barcode labels are needed for the assay.

PSA Bead Pack (L2PS12)
With barcode. 200 beads, coated with polyclonal goat anti-PSA antibody. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KPS2: 1 pack **L2KPS6:** 3 packs

PSA Reagent Wedge (L2PSA2)
With barcode. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to monoclonal murine anti-PSA antibody in buffer, with preservative. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KPS2: 1 wedge **L2KPS6:** 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.

PSA Adjustors (LPSL, LPSH)
Two vials (Low and High) 1.5 mL each of PSA in a chicken serum/buffer matrix, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KPS2: 1 set **L2KPS6:** 2 sets

Before making an adjustment, place the appropriate Aliquot Labels (supplied with the kit) on test tubes so that the barcodes can be read by the on-board reader.

Kit Components Supplied Separately

Multi-Diluent 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
For the on-board dilution of high samples. One vial containing concentrated (ready-to-use), nonhuman protein/buffer matrix, with preservative. Storage: 30 days (after opening) at 2–8°C or 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2M2Z: 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.
L2M2Z: 3 labels **L2M2Z4:** 5 labels

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate
L2PWSM: Probe Wash
L2KPM: Probe Cleaning Kit
LRXT: Reaction Tubes (disposable)
L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

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 Systems Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual for preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval: 4 weeks

Quality Control Samples: Follow government regulations or accreditation requirements for quality control frequency.

Use controls or sample pools with at least two levels (low and high) of PSA.

Siemens Healthcare Diagnostics recommends the use of commercially available quality control materials with at least 2 levels (low and high). A satisfactory level of performance is achieved when the analyte values obtained are within the Acceptable Control Range for the system, or within an established range determined by an appropriate internal laboratory quality control scheme.

Expected Values in Detection of Prostate Cancer

In a retrospective study at one clinical site for prostate cancer detection purposes, samples were collected from 477 men, aged 50 or older. Of these, 20 (4%) were Asian; 8 (2%) were African American; 440 (92%) were Caucasian; 7 (< 1%) were other and 2 (< 1%) provided no ethnic information. All patients also underwent digital rectal examination (DRE). Of these, 52 were biopsied for elevated

(> 4.0 ng/mL) PSA and/or suspicious DRE. The following table summarizes these clinical studies:

No. of Subjects (%)	No. of Biopsies (%)	No. of Prostate Cancers	% Positive Biopsies (95% CI)
All Subjects			
477	52	18	34.6%
PSA > 4.0			
70	38	15	39.5%
14.7%	54.3%		(24.0%–55.7%)
DRE +			
54	17	8	47.1%
11.3%	31.5%		(25.3%–72.2%)
PSA > 4.0 DRE +			
23	12	6	50.0%
4.8%	52.2%		(23.6%–76.4%)
PSA ≤ 4.0 DRE +			
31	5	2	40.0%
6.5%	16.1%		(7.6%–81.1%)
PSA > 4.0 DRE –			
47	26	9	34.6%
9.9%	55.3%		(18.0%–54.2%)
PSA ≤ 4.0 DRE –			
376	9	1	11.1%
78.8%	2.4%		(0.3%–48.3%)

The study demonstrated that PSA testing, when used in conjunction with DRE, was more effective in detecting prostate cancer than DRE alone. PSA determinations detected 50% (9/18) of cancers that DRE did not; PSA elevations greater than 4 ng/mL may warrant additional testing even if the DRE is negative. However, the converse is also true: a subject with suspicious DRE and a normal PSA may also require additional testing since DRE detected 11% (2/18) of cancers that PSA determinations did not.

In the same study, 376 participants were identified as asymptomatic subjects. The following table contains the distribution of PSA values by age decade for these asymptomatic subjects in the clinical study who had both a negative PSA and DRE, and therefore, were not biopsied as well as for those subjects who were negative for cancer biopsy. There is no certainty that all of these subjects were indeed free of prostate disease. Therefore, these data should be interpreted with caution since it is questionable whether these subjects represent a truly normal population. There are presently no data proving that the use of age-specific reference ranges are safe or effective.

Distribution of PSA Levels	***n***	**PSA Median**	**PSA 95th%ile**
All subjects	376	0.78	2.98
50–59 age group	159	0.60	2.30
60–69 age group	143	0.91	2.84
≥70 age group	74	1.17	3.17

In studies performed at four clinical sites, 2618 samples collected from 1965 patients were tested. Shown below is the distribution of IMMULITE PSA results from this study.

Number of Subjects / Samples	0–4 ng/mL	4–10 ng/mL	10–20 ng/mL	20–40 ng/mL	>40 ng/mL
Female Subjects					
253/253	100%	0%	0%	0%	0%
Healthy					
149/149	100%	0%	0%	0%	0%
Nonmalignant Diseases					
28/28	100%	0%	0%	0%	0%
Malignant Diseases					
76/76	100%	0%	0%	0%	0%
Healthy Male Subjects					
473/473	99.4%	0.6%	0%	0%	0%
Non-Malignant Diseases					
548/548	76.2%	19.3%	3.5%	0.9%	0%
BPH					
333/333	67.9%	25.8%	5.4%	0.9%	0%
Other Prostatic Diseases					
66/66	80.3%	18.2%	1.5%	0%	0%
Other Nonprostatic Diseases					
149/149	93.2%	5.4%	0%	1.3%	0%
Non-Prostatic Malignancies					
312/312	93.0%	6.1%	0.6%	0.3%	0%
Prostate Cancer (single specimens)					
274/274	42.3%	21.2%	13.1%	7.3%	16.1%

Number of Subjects / Samples	0–4 ng/mL	4–10 ng/mL	10–20 ng/mL	20–40 ng/mL	>40 ng/mL
Prostate Cancer (serially monitored)					
105/758	54.8%	11.7%	10.7%	7.5%	15.3%
Stage A					
17/174	64.9%	9.8%	9.2%	3.5%	12.6%
Stage B					
31/200	54.0%	14%	12%	8.5%	11.5%
Stage C					
19/102	56.9%	6.9%	7.8%	8.8%	19.6%
Stage D					
38/282	48.2%	13.1%	11.7%	8.9%	18.0%
Total:					
1965/2618	1962	275	138	83	160

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

Limitations

Serum PSA concentrations should not be interpreted as absolute evidence for the presence or absence of malignant disease, nor should serum PSA be used alone as a screening test for malignant disease.[8]

Prediction of malignant prostatic disease recurrence should be based on a complete clinical evaluation of the patient, which may also include serial serum PSA determinations.

Samples should be obtained before biopsy, prostatectomy or prostatic massage, since manipulation of the prostate gland may lead to elevated PSA levels persisting up to 3 weeks.[18]

PSA expression may be altered due to hormonal therapy for prostate cancer. Consequently, a low PSA result following a prostatic cancer treatment which includes hormonal therapy may not adequately reflect the presence of residual or recurrent disease.[25]

Some individuals have antibodies to mouse protein which can cause interference in immunoassays that employ antibodies derived from mice. In particular, specimens from patients who have received preparations of mouse monoclonal antibodies for diagnosis or therapy may contain human anti-mouse antibodies (HAMA). These specimens may show erroneous results in such assays.[22-24] Therefore, results should be interpreted with caution for such patients.

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

The following sections contain 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.)

Working Range: 0.04–150 ng/mL [WHO NIBSC 1st IS 96/670]

Analytical Sensitivity: 0.04 ng/mL

High-dose Hook Effect:
None up to 4277 ng/mL

Precision: Samples were processed in duplicate over the course of 20 days, two runs per day, for a total of 40 runs and 80 replicates. Results are expressed in ng/mL.

		Within-Run		Total	
	Mean	SD	CV	SD	CV
1	2.8	0.10	3.6%	0.14	5.0%
2	7.4	0.23	3.1%	0.36	4.9%
3	11.4	0.34	3.0%	0.60	5.3%
4	25	0.70	2.8%	1.1	4.4%
5	65	1.4	2.2%	2.5	3.9%
6	126	3.2	2.5%	4.7	3.7%

Linearity: Samples were assayed under various dilutions. Results are expressed in ng/mL.

	Dilution	Observed	Expected	%O/E
1	16 in 16	1.03	—	—
	8 in 16	0.48	0.52	92%
	4 in 16	0.23	0.26	91%
	2 in 16	0.13	0.13	100%
	1 in 16	0.06	0.06	100%
2	16 in 16	7.8	—	—
	8 in 16	3.96	3.90	101%
	4 in 16	2.05	1.95	105%
	2 in 16	0.98	0.98	100%
	1 in 16	0.51	0.49	105%
3	16 in 16	27.2	—	—
	8 in 16	13.9	13.6	102%
	4 in 16	7.0	6.8	103%
	2 in 16	3.6	3.4	106%
	1 in 16	1.7	1.7	100%
4	16 in 16	99	—	—
	8 in 16	48	50	96%
	4 in 16	25	25	100%
	2 in 16	13	12	108%
	1 in 16	6.7	6.2	108%
5	16 in 16	126	—	—
	8 in 16	61	63	97%
	4 in 16	33	32	103%
	2 in 16	17	16	106%
	1 in 16	8.9	7.9	113%

Recovery: Samples spiked 1 to 19 with four PSA solutions (107, 208, 653 and 817 ng/mL) were assayed. Results are expressed in ng/mL.

	Spiking Solution	Observed	Expected	%O/E
1	—	0.46	—	—
	A	6.0	5.8	103%
	B	11.2	10.8	104%
	C	33	33	100%
	D	42	41	102%
2	—	6.4	—	—
	A	11.8	11.5	103%
	B	16	17	94%
	C	42	39	108%
	D	49	47	104%
3	—	26	—	—
	A	28	30	93%
	B	32	35	91%
	C	56	58	97%
	D	65	66	98%

Bilirubin: Presence of bilirubin in concentrations up to 200 mg/L has no effect on results, within the precision of the assay.

Biotin: Specimens that contain biotin at a concentration of 1500 ng/mL demonstrate a less than or equal to 10% or less than or equal to 0.075 ng/mL change in PSA results, whichever is greater.

Biotin concentrations greater than this may lead to falsely depressed results for patient samples.

Biotin Test Level (ng/mL)	PSA Concentration (ng/mL)		
	0.16	3.73	10.12
	Bias (%) or Change in Results (ng/mL)		
1500	–0.02 ng/mL	–8%	–9%
3500	–0.02 ng/mL	–11%	–11%

Hemolysis: Presence of packed red blood cells in concentrations up to 30 µL/mL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 5000 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Specificity: The assay is highly specific for prostate-specific antigen, with a particularly low crossreactivity to other naturally occurring compounds and chemotherapeutic agents that might be present in patient samples.

Compound	ng/mL Added	% Cross-reactivity
AFP	10,000	ND
Amethopterin	100,000	ND
CEA	100	ND
Cisplatin	100,000	ND
Cyclophosphamide	1,000,000	ND
Diethylstilbestrol	10,000,000	ND
Doxazosin mesylate	1,000,000	ND
Doxorubicin Hydrochloride	100,000	ND
Ferritin	10,000	ND
Finasteride	10,000,000	ND
5-Fluorouracil	1,000,000	ND
Flutamide	100,000	ND
HCG	10,000	ND
Lactalbumin	1,000,000	ND
Leuprolide acetate	100,000	ND
Megesterol	1,000,000	ND
Mitomycin C	100,000	ND
PAP	1000	ND
Prolactin	500	ND
Vincristine	1,000,000	ND

ND: not detectable

Method Comparison: Four nonisotopic PSA assays were compared using Deming regression analysis. Samples used were within the working range of the assays. The table below presents the results of the Deming regressions, with columns as Y, and rows as X.

IMMULITE PSA

	IML PSA	IML 2000 PSA	IML 3rd Gen. PSA	IML 2000 3rd Gen. PSA
n		477	474	473
Slope (95% CI)		0.94 (0.93 to 0.95)	0.99 (0.98 to 1.00)	1.08 (1.07 to 1.10)
Intercept (95% CI)		–0.11 (–0.15 to –0.07)	0.05 (0.02 to 0.09)	0.06 (0.02 to 0.11)
Correlation Coefficient		0.992	0.993	0.991

IMMULITE 2000 PSA

n	477		474	473
Slope (95% CI)	1.06 (1.05 to 1.08)		1.06 (1.05 to 1.08)	1.16 (1.14 to 1.17)
Intercept (95% CI)	0.12 (0.08 to 0.16)		0.15 (0.11 to 0.20)	0.18 (0.14 to 0.23)
Correlation Coefficient	0.992		0.988	0.990

IMMULITE 3rd Generation PSA

n	474	474		472
Slope (95% CI)	1.01 (1.00 to 1.03)	0.94 (0.93 to 0.96)		1.10 (1.09 to 1.11)
Intercept (95% CI)	–0.06 (–0.09 to –0.02)	–0.15 (–0.19 to –0.10)		–0.00 (–0.05 to 0.05)
Correlation Coefficient	0.993	0.988		0.990

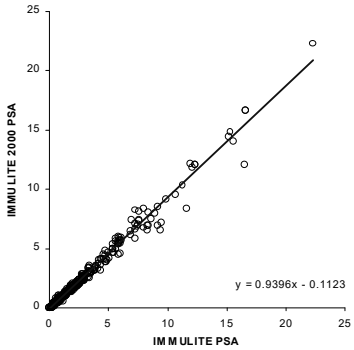
IMMULITE 2000 3rd Generation PSA

n	473	473	472	
Slope (95% CI)	0.92 (0.91 to 0.94)	0.86 (0.85 to 0.87)	0.91 (0.90 to 0.92)	
Intercept (95% CI)	–0.06 (–0.10 to –0.02)	–0.16 (–0.20 to –0.12)	0.00 (–0.04 to 0.04)	
Correlation Coefficient	0.991	0.990	0.990	

The following graph presents the comparison between IMMULITE 2000 PSA and IMMULITE PSA on 477 patient samples. (Concentration range: nondetectable to approximately 20 ng/mL.) By linear regression:

(IML 2000) = 0.94 (IML) – 0.11 ng/mL
r = 0.992

Means:
2.05 ng/mL (IMMULITE 2000)
2.30 ng/mL (IMMULITE)



References

1) Wang MC et al. Purification of a human prostate specific antigen. Invest Urol 1979;17:159-63. 2) Kuriyama M et al. Prostatic acid phosphatase and prostate- specific antigen in prostate cancer. In: International Advances in Surgical Oncology. New York: Alan R. Liss Inc. 1982; 5:29-49. 3) Watt WK, Lee PJ et al. Human prostate-specific antigen: structural and functional similarity with serine proteases. Proc Natl Acad Sci USA 1986;83:3166-70.
4) Lundwall A. Characterization of the gene for prostate specific antigen a human glandular kallikrein. Biochem Biophys Res Commun 1989;161:1151-9. 5) Papsidero LD et al. A prostate antigen in sera of prostatic cancer patients. Cancer Res 1980;40:2428-31. 6) Nadji M et al. Prostatic-specific antigen: an immunohistologic marker for prostatic neoplasms. Cancer 1981;48:1229-32. 7) Wang MC et al. Prostate antigen of human cancer patients. In: Methods in cancer research. Academic Press Inc. 1982; 19:179-97.
8) Kuriyama M et al. Quantitation of prostate-specific antigen in serum by a sensitive enyzme immunoassay. Cancer Res 1980;40:4658-62.
9) Catalona WJ et al. Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer. New Engl J Med 1991;324:1156-61. 10) Brawer MK, Lange PH. Prostate-specific antigen: its role in early detection staging and monitoring prostatic carcinoma. J Endocrinol 1989;3:227-36.
11) Killian CS et al. Prognostic importance of prostate specific antigen for monitoring patients with stages B2 to D1 prostate cancer. Cancer Res 1985;45:886-91. 12) Stamey TA. Prostate specific antigen in the diagnosis and treatment of adenocarcinoma of the prostate. In: Stamey TA editor. Monographs in Urology. Princeton NY: Medical Directions Publishing Co. Inc. 1989; 10(4):50-64. 13) Ercole CJ et al. Prostatic specific antigen and prostatic acid phosphatase in the monitoring and staging of patients with prostatic cancer. J Urol 1987;138:1181-4.
14) Chan DW et al. Prostate-specific antigen as a marker for prostatic cancer: a monoclonal and a polyclonal immunoassay compared. Clin Chem 1987;33:1916-20. 15) Lange PH et al. The value of serum prostate specific antigen determinations before and after radical prostatectomy. J Urol 1989;141:873-9.
16) Oesterling JE. Prostate specific antigen: a critical assessment of the most useful tumor marker for adenocarcinoma of the prostate. J Urol 1991;145:907-23. 17) Kuriyama M et al. Multiple marker evaluation in human prostate cancer with the use of tissue-specific antigens. J Natl Cancer Inst 1982;68:99-105. 18) Stamey TA, Yang N et al. Prostate specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. N Engl J Med 1987;317:909-16.
19) Brawer MK et al. The effect of digital rectal examination on serum levels of prostatic specific antigen. Arch Pathol Lab Med 1988;112:1110-2.
20) Hughes HR et al. Serum prostatic specific antigen: *in vitro* stability and the effect of ultrasound rectal examination in vivo. Ann Clin Biochem 1987;24:(Suppl)206-8. 21) Jacobs DS, Grady HD, editors. Laboratory Test Handbook. 4th ed. Hudson (Cleveland): Lexi-Comp Inc., 1996; 193. 22) Primus FJ et al. "Sandwich"-type immunoassay of carcinoembryonic antigen in patients receiving murine antibody for diagnosis and therapy. Clin Chem 1988;34:261-4.
23) Hansen HJ et al. Solving the problem of antibody interference in commercial "sandwich"-type immunoassay of carcinoembryonic antigen. Clin Chem 1989;35:146-51. 24) Schroff RJ et al. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. Cancer Res 1985;45:879-85.
25) Morgan WR et al. Prostate specific antigen values after radical retropubic prostatectomy for adenocarcinoma of the prostate: impact of adjuvant treatment (hormonal and radiation). J Urol 1991;145:319-23. 26) 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. 27) Smith RA, et al. American Cancer Society guidelines for the early detection of cancer. CA Cancer J Clin 2000; 50(1):34-49.
28) Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne

pathogens in healthcare settings. MMWR, 1988;37:377–82, 387–8. 29) Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3. 30) Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030.

Technical Assistance

For Technical Assistance, contact your national distributor.

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

Precision (ng/mL)

		Within-Run[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	2.8	0.10	3.6%	0.14	5.0%
2	7.4	0.23	3.1%	0.36	4.9%
3	11.4	0.34	3.0%	0.60	5.3%
4	25	0.70	2.8%	1.1	4.4%
5	65	1.4	2.2%	2.5	3.9%
6	126	3.2	2.5%	4.7	3.7%

Linearity (ng/mL)

	Dilution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	16 in 16[5]	1.03	—	—
	8 in 16	0.48	0.52	92%
	4 in 16	0.23	0.26	91%
	2 in 16	0.13	0.13	100%
	1 in 16	0.06	0.06	100%
2	16 in 16	7.8	—	—
	8 in 16	3.96	3.90	101%
	4 in 16	2.05	1.95	105%
	2 in 16	0.98	0.98	100%
	1 in 16	0.51	0.49	105%
3	16 in 16	27.2	—	—
	8 in 16	13.9	13.6	102%
	4 in 16	7.0	6.8	103%
	2 in 16	3.6	3.4	106%
	1 in 16	1.7	1.7	100%
4	16 in 16	99	—	—
	8 in 16	48	50	96%
	4 in 16	25	25	100%
	2 in 16	13	12	108%
	1 in 16	6.7	6.2	108%
5	16 in 16	126	—	—
	8 in 16	61	63	97%
	4 in 16	33	32	103%
	2 in 16	17	16	106%
	1 in 16	8.9	7.9	113%

Recovery (ng/mL)

	Spiking Solution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	—	0.46	—	—
	A	6.0	5.8	103%
	B	11.2	10.8	104%
	C	33	33	100%
	D	42	41	102%
2	—	6.4	—	—
	A	11.8	11.5	103%
	B	16	17	94%
	C	42	39	108%
	D	49	47	104%
3	—	26	—	—
	A	28	30	93%
	B	32	35	91%
	C	56	58	97%
	D	65	66	98%

Specificity

Compound[1]	ng/mL Added[2]	% Cross-reactivity[3]
AFP	10,000	ND
Amethopterin	100,000	ND
CEA	100	ND
Cisplatin	100,000	ND
Cyclophosphamide	1,000,000	ND
Diethylstilbestrol	10,000,000	ND
Doxazosin mesylate	1,000,000	ND
Doxorubicin Hydrochloride	100,000	ND
Ferritin	10,000	ND
Finasteride	10,000,000	ND
5-Fluorouracil	1,000,000	ND
Flutamide	100,000	ND
HCG	10,000	ND
Lactalbumin	1,000,000	ND
Leuprolide acetate	100,000	ND
Megesterol	1,000,000	ND
Mitomycin C	100,000	ND
PAP	1000	ND
Prolactin	500	ND
Vincristine	1,000,000	ND

ND: not detectable[4]

Method Comparison: Deming regression analysis[1]

The table below presents the results of the Deming regressions, with columns as Y, and rows as X.[2]

IMMULITE PSA

	IML PSA	IML 2000 PSA	IML 3rd Gen. PSA	IML 2000 3rd Gen. PSA
n[3]		477	474	473
Slope[4] (95% CI)[5]		0.94 (0.93 to 0.95)	0.99 (0.98 to 1.00)	1.08 (1.07 to 1.10)
Intercept[6] (95% CI)		–0.11 (–0.15 to –0.07)	0.05 (0.02 to 0.09)	0.06 (0.02 to 0.11)
Correlation Coefficient[7]		0.992	0.993	0.991

IMMULITE 2000 PSA

	IML PSA	IML 2000 PSA	IML 3rd Gen. PSA	IML 2000 3rd Gen. PSA
n	477		474	473
Slope (95% CI)	1.06 (1.05 to 1.08)		1.06 (1.05 to 1.08)	1.16 (1.14 to 1.17)
Intercept (95% CI)	0.12 (0.08 to 0.16)		0.15 (0.11 to 0.20)	0.18 (0.14 to 0.23)
Correlation Coefficient	0.992		0.988	0.990

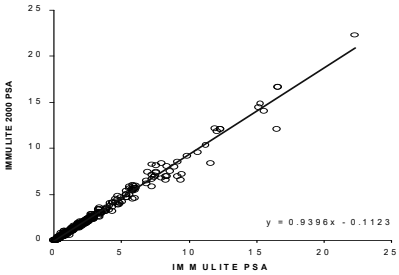
IMMULITE 3rd Generation PSA

	IML PSA	IML 2000 PSA	IML 3rd Gen. PSA	IML 2000 3rd Gen. PSA
n	474	474		472
Slope (95% CI)	1.01 (1.00 to 1.03)	0.94 (0.93 to 0.96)		1.10 (1.09 to 1.11)
Intercept (95% CI)	–0.06 (–0.09 to –0.02)	–0.15 (–0.19 to –0.10)		–0.00 (–0.05 to 0.05)
Correlation Coefficient	0.993	0.988		0.990

IMMULITE 2000 3rd Generation PSA

	IML PSA	IML 2000 PSA	IML 3rd Gen. PSA	IML 2000 3rd Gen. PSA
n	473	473	472	
Slope (95% CI)	0.92 (0.91 to 0.94)	0.86 (0.85 to 0.87)	0.91 (0.90 to 0.92)	
Intercept (95% CI)	–0.06 (–0.10 to –0.02)	–0.16 (–0.20 to –0.12)	0.00 (–0.04 to 0.04)	
Correlation Coefficient	0.991	0.990	0.990	

Method Comparison Graph



(IML 2000) = 0.94 (IML) – 0.11 ng/mL
r = 0.992

Deutsch. **Precision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]S (Standardabweichung), [5]CV (Variationskoeffizient). **Linearity**: [1]Verdünnung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E, [5]16 in 16. **Recovery**: [1]Lösung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E. **Specificity**: [1]Verbindung, [2]zugesetzte Menge, [3]% Kreuzreaktivität, [4]NN: Nicht nachweisbar. **Method Comparison: Deming Regression Analysis:** [1]Regressionsanalyse nach Deming, [2]Die nachfolgende Tabelle zeigt Ergebnisse der Regression nach Deming mit den Spalten als Y-Werte und den Reihen als X-Werte, [3]n, [4]Steigung, [5](95% Vertrauensbereich), [6]y-Achsenab-schnitt, [7]Korrelations-koeffizient.

Español. **Precision**: [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV. **Linearity**: [1]Dilución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]16 en 16. **Recovery**: [1]Solución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Specificity**: [1]Compuesto, [2]Cantidad añadida, [3]% Reacción cruzada, [4]ND: no detectable. **Method Comparison: Deming Regression Analysis:** [1]Regresión de Deming analysis, [2]La tabal a continuación represnta los resultgados de las regresiones de Deminge Deming regressions, donde las columnas representan al eje Y y las filas el eje X. [3]n, [4]Pendiente, [5](95% CI), [6]Punto de corte, [7]Coeficiente de correlación.

Français. **Precision**: [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]SD, [5]CV. **Linearity**: [1]Dilution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A, [5]16 dans 16. **Recovery**: [1]Solution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A. **Specificity**: [1]Composé, [2]ajouté, [3]Réaction croisée%. [4]ND: non détectable. **Method Comparison: Deming Regression Analysis:** [1]Régression de Deming, [2]Le tableau suivant présente les résultats des régressions de Deming avec les colonnes pour Y et les lignes pour X. [3]n, [4]Pente, [5](95% CI), [6]Intercept, [7]Coefficient de corrélation.

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity**: [1]Diluizione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A, [5]16 in 16. **Recovery**: [1]Soluzione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A. **Specificity**: [1]Composto, [2]quantità aggiunta, [3]Percentuale di Crossreattività, [4]ND: non determinabile. **Method Comparison: Deming Regression Analysis:** [1]Regressione di Deming, [2]La tabella di seguito riportata presenta i risultati delle regressioni di Deming, con le colonne utilizzate per le Y e le riche per le X. [3]n, [4]Curva, [5](95% CI), [6]Intercetta, [7]Coefficiente di Correlazione.

Português. **Precision**: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação. **Linearity**: [1]Diluição, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]16 em 16. **Recovery**: [1]Solução, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Specificity**: [1]Composto, [2]Quantidade adicionada, [3]Percentagem de reacção cruzada, [4]ND: não detectável. **Method Comparison: Deming Regression Analysis:** [1]Regressão de Deming, [2]A tabela seguinte apresenta os resultados da regressão de Deming, com as colunas como Y, e as linhas como X. [3]n, [4]Declive, [5](95% CI), [6]Intercepção, [7]Coeficiente de Correlação.

Deutsch

PSA

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme — zur quantitativen Bestimmung von Prostataspezifischem Antigen (PSA) in humanem Serum, als Hilfestellung in der Diagnose von Prostatakarzinomen in Kombination mit der rektalen Palpation (DRE: Digital Rectal Examination) bei Männern von 50 Jahren oder älter. Dieser Assay ist weiterhin als zusätzlicher Test in der Verlaufskontrolle von Patienten mit Prostatakarzinom indiziert.

Artikelnummern:
L2KPS2 (200 Tests) **L2KPS6** (600 Tests)

Testcode**: PSA** Farbe: **braun**

Unterschiede in der jeweiligen Methodik oder der Spezifität der Reagenzien können dazu führen, das die mit Testsystemen von verschiedenen Herstellern ermittelten Konzentrationen an PSA für dieselben Proben nicht einheitlich sind. In den vom Labor an den Arzt gemeldeten Ergebnissen muss das verwendete Testsystem ausgewiesen werden. Die mit verschiedenen PSA - Testsystemen erzielten Werte sind nicht austauschbar. Vor dem Umstieg auf ein anderes Testsystem müssen die Basiswerte für die seriell überwachten Patienten vom Labor verifiziert werden.

Klinische Relevanz

Das prostataspezifische Antigen (PSA), zuerst endeckt und charakterisiert durch Wang et al. im Jahr 1979, ist ein Glykoproteinmonomer mit Proteaseaktivität.[1,2] PSA hat seinen isoelektrischen Punkt bei 6,9 und ein Molekulargewicht von 33–34 Kilodalton. Sein Kohlenhydratanteil beträgt 10%.[1,2] Die Aminosäuresequenz des PSA ist bekannt[3], das Gen wurde kloniert.[4] PSA unterscheidet sich sowohl biochemisch als auch immunologisch vom PAP; es hat keine Phosphataseaktivität.[5]

PSA kommt im Zytoplasma des Epithels der Drüsenausführungsgänge der Prostata und im Serminalplasma vor.[6] Da PSA ein sekretorisches Protein der Prostata ist, kann es sowohl aus Prostatagewebe als auch aus Seminalplasma gewonnen und gereinigt werden.[7] PSA wurde ursprünglich nur im Prostatagewebe nachgewiesen. Erhöhte PSA-Werte werden bei Patienten mit Prostatakarzinom, benigner Prostatahyperplasie (BPH), Prostatitis und Entzündungen des Urogenitaltraktes gefunden. Bei gesunden Männern und männlichen Patienten mit Tumoren anderer Lokalisation, sowie gesunden und krebskranken Frauen, treten keine erhöhten PSA-Werte auf.[5,8]

Das Serum-PSA alleine, ist für ein Screening auf Prostatakarzinom nicht geeignet, da erhöhte Werte auch bei Patienten mit benigner Postatahyperplasie (BPH) auftreten.[8] Ebenso sollte es nicht als Einzelparameter für das Staging verwendet werden. Die Kombination des PSA-Spiegels eines Patienten mit auffälliger Klinik mit dem Ultraschallbefund, verbessert die Diagnostik des Prostatkarzinoms gegenüber der alleinigen rektalen Untersuchung. Die Messung des PSA bietet einige Vorzüge gegenüber der rektalen Palpation oder der Ultraschall-Untersuchung in der Diagnose des Prostatakarzinoms: die Ergebnisse sind quantitativ, objektiv und werden unabhängig von der Erfahrung des jeweiligen Untersuchers ermittelt. Weiterhin wird die PSA-Messung von Patienten eher akzeptiert, als andere Untersuchungsmethoden.[9]

Die Bestimmung des Gesamt-PSA kann in der Verlaufs- und Therapiekontrolle des Prostatakarzinoms Metastasen oder das Fortdauern der Erkrankung hilfreich sein.[10,11] Ein anhaltender hoher PSA-Spiegel nach Behandlung oder der Anstieg des prätherapeutischen PSA-Spiegels, weist auf ein Rezidiv bzw. einen Resttumor hin.[12-16] Daher ist die PSA-Bestimmung in der Verlaufs- und Therapiekontrolle von Prostatakarzinom-patienten von großer Wichtigkeit.[12-16] Die gleichzeitige Bestimmung des PAP kann zusätzliche Informationen bringen.[17]

Die „American Cancer Society“ empfiehlt, sowohl die PSA Bestimmung im Serum, als auch die rektale Palpation bei Männern ab 50 Jahren, die eine Lebenserwartung von mindestens 10 Jahren haben, sowie bei jüngeren Risikopatienten, jährlich durchzuführen. Patienten sollten über Vorteile und Risiken einer frühzeitigen Erkennung und Therapie aufgeklärt werden. Für Männer in Hochrisiko-gruppen, wie solche mit zwei oder mehr erkrankten Verwandten ersten Grades, ist ein Screening schon in jüngeren Jahren, z.b. ab 45 Jahren, in Erwägung zu ziehen.[27]

Methodik

IMMULITE 2000 PSA ist ein Festphasen Chemilumineszenz immunometrischer Assay.

Die feste Phase (Kugel) ist mit einem polyklonalen Anti-PSA Antikörper von der Ziege beschichtet. Patientenprobe und Reagenz werden zusammen mit der Kugel, die mit polyklonalen Anti-PSA

Antikörpern beschichtet ist, inkubiert. In dieser Zeit wird das PSA in der Patientenprobe von den Antikörpern auf der beschichteten Kugel und den mit alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugierten monoklonalen Anti-PSA Antikörpern von der Maus aus dem Reagenz gebunden. Es bildet sich ein Antikörper-Sandwich-Komplex. Ungebundenes Enzymkonjugat wird anschließend durch einen Zentrifugal-Waschschritt entfernt. Zuletzt wird Chemilumineszenz-Substrat zur Kugel hinzugefügt und das Messsignal wird proportional zum gebundenen Enzym gebildet.

Inkubationszyklen: 1 × 30 Minuten

Probengewinnung

Die Blutentnahme sollte vor einer Biopsie, Prostatektomie oder Prostatamassage erfolgen, da jede Manipulation an der Prostata zu erhöhten PSA-Werten führen kann. Erhöhte PSA-Werte können noch bis zu 3 Wochen nach Manipulation der Prostata gefunden werden.[18]

Zum Einfluß der rektalen Untersuchung der Prostata auf die PSA-Serumkonzentration gibt es widersprüchliche Studien.[19,20] Sicherheitshalber sollte die Blutabnahme vor einer rektalen Untersuchung der Prostata erfolgen.

Die Verwendung von EDTA-Plasma ist nicht empfehlenswert.

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 Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln 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 PSA sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden.

Erforderliche Menge: 10 µl Serum

Lagerung: 48 Stunden bei 2–8°C, oder zur längeren Lagerung bei –20°C.[21]

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *in vitro*-Diagnostik.



VORSICHT! BIOLOGISCHES RISIKOMATERIAL
Enthält Material humanen Ursprungs. Alle Blutspenden oder Blutkomponenten menschlicher Herkunft wurden nach FDA-genehmigten Methoden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die HI-Viren Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2) sowie von Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und Antikörpern gegen den Hepatitis C-Virus (HCV) getestet. Die Testergebnisse waren negativ (nicht wiederholt reaktiv). Durch keinen Test kann das Vorhandensein dieser oder anderer infektiöser Stoffe vollständig ausgeschlossen werden. Dieses Material ist mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und gemäß der allgemein anerkannten guten Laborpraxis zu handhaben.[28-30]

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.

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–Substratmodul: Kontaminationen sowie direkte Einwirkung von Sonnenlichtein sind zu vermeiden. (Siehe Packungsbeilage.)

Wasser: Nur destilliertes bzw. deionisiertes Wasser benutzen.

Im Lieferumfang enthalten

Die Bestandteile sind aufeinander abgestimmt. Die Aufkleber auf der Innenverpackung werden zur Testdurchführung gebraucht.

PSA Kugel-Container (L2PS12)
Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit polyklonalen anti-PSA Antikörper (Ziege). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KPS2: 1 Container
L2KPS6: 3 Container

PSA - Reagenzbehälter (L2PSA2)
Mit Barcode. Reagenz-Container enthält 11,5 ml alkalische Phophatase (Kalb). Konjugiert mit monoklonalem anti-PSA Antikörpern (Maus) in Pufferlösung, mit Konservierungsmittel. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar
L2KPS2: 1 Behälter **L2KPS6:** 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.

PSA Kalibratoren (LPSL, LPSH)
Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) à 1,5 ml PSA, in Hühnerserum-Puffermatrix mit Konservierungsmittel. 30 Tage nach Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KPS2: 1 Set **L2KPS6:** 2 Sets

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Röhrchen kleben, so daß die Barcodes vom Barcodereader des Systems gelesen werden können.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

Multidiluent 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Zur on-board Verdünnung von Patientproben. Eine Flasche mit einem gebrauchsfertigen Konzentrat aus einer non-humanen Protein/ Puffer-Matrix versetzt mit Konservierungsmittel.
30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C oder 6 Monate bei –20°C haltbar.
L2M2Z: 25 ml **L2M2Z4:** 55 ml

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2M2Z: 3 Etiketten **L2M2Z4:** 5 Etiketten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: Einmal-Reaktionsgefäße
L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm) für die Probenverdünnung
L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

Ebenfalls benötigt
Transferpipetten für die Proben; destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Kontrollen

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Verdünnung, Kalibration, Test- und Qualitätskontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme.

Empfohlenes Kalibrationsintervall: 4 Wochen

Qualitätskontrollseren: Jeweils gültige gesetzlichen Bestimmungen oder Akkreditierungsanforderungen sind bei der Festlegung der Intervalle zur Durchführung der Qualitätskontrollen zu berücksichtigen.

Kontrollen oder Seren mit PSA in zumindest zwei Konzentrationen (niedrige und hohe) verwenden.

Siemens Healthcare Diagnostics empfiehlt die Verwendung von kommerziell verfügbaren Qualitätskontrollen in mindestens 2 Konzentrationen (niedrig und hoch). Der Systembetrieb gilt dann als zufriedenstellend, wenn die Analytwerte innerhalb des für das System zulässigen Kontrollbereichs oder des für die laborinternen Qualitätskontrollverfahren festgelegten zulässigen Bereichs liegen.

Referenzwerte zur Erkennung von Prostatakarzinom

In einer retrospektiven Studie an einem klinischen Zentrum mit Behandlungsschwerpunkt Prostatakarzinom wurden Proben von insgesamt 477 Männern, die 50 Jahre oder älter sind, gesammelt. Hiervon waren 20 (4%) Asiaten; 8 (2%) waren Afro-Amerikaner; 440 (92%) waren Kaukasier; 7 (< 1%) waren anderer ethnografischer Herkunft und 2 (< 1%) machten keine Angaben. Alle Probanden wurden mittels rektaler Prostatapalpation (DRE: Digital Rectal Examination) untersucht. Hiervon wurden 52 Probanden aufgrund erhöhter PSA Werte (> 4,0 ng/ml) und/ oder auffälligem Tastbefund biopsiert. In den folgenden Tabellen sind die Ergebnisse der Studie zusammengefasst.

Anzahl Probanden (%)	Anzahl Biopsien (%)	Anzahl Prostata-karzinome	% positive Biopsien (95% Vertrauens-bereichl)
Alle Probanden			
477	52	18	34,6%
PSA > 4,0			
70	38	15	39,5%
14,7%	54,3%		(24,0%–55,7%)
DRE +			
54	17	8	47,1%
11,3%	31,5%		(25,3%–72,2%)
PSA > 4,0 DRE +			
23	12	6	50,0%
4,8%	52,2%		(23,6%–76,4%)
PSA ≤ 4,0 DRE +			
31	5	2	40,0%
6,5%	16,1%		(7,6%–81,1%)
PSA > 4,0 DRE –			
47	26	9	34,6%
9,9%	55,3%		(18,0%–54,2%)
PSA ≤ 4,0 DRE –			
376	9	1	11,1%
78,8%	2,4%		(0,3%–48,3%)

Die Studie zeigt, dass die PSA Messung in Verbindung mit der rektalen Palpation ein Prostatakarzinom effektiver zu diagnostizieren vermag, als die Prostatapalpation alleine. Mittels PSA Bestimmung wurden 50% (9/18) der Prostatakarzinome mit unauffälligem Tastbefund erkannt. PSA Werte über 4 ng/ml rechtfertigen deshalb weitere Untersuchungen auch bei unauffälligem Tastbefund. Aber auch im umgekehrten Fall, auffälliger Tastbefund und normaler PSA Wert, sind weitere Untersuchungen erforderlich, denn mittels DRE wurden 11% (2/18) der PSA negativen Prostatakarzinome erkannt.

In der gleichen Studie wurden 376 Probanden als asymptomatisch eingestuft. In der folgenden Tabelle wird diese Gruppe in Altersklassen aufgeteilt. Es wurden Probanden mit unauffälligem Tastbefund und normalem PSA Wert, also ohne Biopsie, berücksichtigt, als auch solche mit negativer Biopsie. Es lässt sich nicht vollständig sicherstellen, dass wirklich alle Probanden frei von Erkrankungen der Protata sind. Deswegen sollten diese Daten mit Vorsicht interpretiert werden, denn es ist fraglich, ob das untersuchte Kollektiv wirklich eine normale Population repräsentiert. Zur Zeit gibt es keine gesicherten Daten, die belegen, dass die Verwendung altersabhängiger Referenzbereiche sicher und effektiv ist.

Verteilung der PSA Werte	***n***	**PSA Median**	**PSA 95%ile**
Alle Probanden	376	0,78	2,98
50–59 Jahre	159	0,60	2,30
60–69 Jahre	143	0,91	2,84
≥70 Jahre	74	1,17	3,17

In einer Studie an vier klinischen Zentren wurden 2618 Proben von 1965 Patienten gemessen. Die nachfolgende Tabelle zeigt die Verteilung der IMMULITE PSA Werte in dieser Studie.

Anzahl Probanden / Proben	0–4 ng/ml	4–10 ng/ml	10–20 ng/ml	20–40 ng/ml	>40 ng/ml
Frauen					
253/253	100%	0%	0%	0%	0%
Gesunde					
149/149	100%	0%	0%	0%	0%
Nicht maligne Erkrankungen					
28/28	100%	0%	0%	0%	0%
Maligne Erkrankungen					
76/76	100%	0%	0%	0%	0%
Gesunde Männer					
473/473	99,4%	0,6%	0%	0%	0%
Nicht maligne Erkrankungen					
548/548	76,2%	19,3%	3,5%	0,9%	0%
BPH					
333/333	67,9%	25,8%	5,4%	0,9%	0%
Andere Prostataerkrankungen					
66/66	80,3%	18,2%	1,5%	0%	0%
Benigne nicht prostatische Erkrankungen					
149/149	93,2%	5,4%	0%	1,3%	0%
Maligne nicht prostatische Erkrankungen					
312/312	93,0%	6,1%	0,6%	0,3%	0%
Prostatakarzinom (Einzelprobe)					
274/274	42,3%	21,2%	13,1%	7,3%	16,1%
Prostatakarzinom (Verläufe)					
105/758	54,8%	11,7%	10,7%	7,5%	15,3%
Stage A					
17/174	64,9%	9,8%	9,2%	3,5%	12,6%
Stage B					
31/200	54,0%	14%	12%	8,5%	11,5%
Stage C					
19/102	56,9%	6,9%	7,8%	8,8%	19,6%
Stage D					
38/282	48,2%	13,1%	11,7%	8,9%	18,0%
Total:					
1965/2618	1962	275	138	83	160

Diese Grenzwerte sind lediglich als *Richtlinien* aufzufassen. Jedes Labor sollte seine eigenen Referenzbereiche etablieren.

Grenzen der Methode

Die Serum-Konzentration des PSA sollte nicht als alleiniges diagnostisches Kriterium für das Vorliegen einer malignen Erkrankung interpretiert werden.[8]

Aussagen zur Rezidivierung einer malignen Erkrankung der Prostata sollten sich stets auf alle verfügbaren klinischen Daten des Patienten einschließlich Verlaufsuntersuchungen der Serumkonzentration des PSA stützen.

Die Blutentnahme sollte vor einer Biopsie, Prostatektomie oder Prostatamassage erfolgen, da jede Manipulation an der Prostata zu erhöhten PSA-Werten führen kann. Erhöhte PSA-Werte können noch bis zu 3 Wochen nach Manipulation der Prostata gefunden werden.[18]

Die Freisetzung von PSA kann unter dem Einfluss einer Hormontherapie des Prostatakarzinoms schwanken. Möglicherweise reflektiert ein niedriger PSA-Wert nach Behandlung des Prostata-CA und hormoneller Therapie eventuell vorhandenes Restgewebe oder ein Rezidiv nicht völlig korrekt.[25]

Einige Patienten können Antikörper gegen Mäuseproteine tragen, die zu Interferenzen in Immunoassays auf der Basis monoklonaler Antikörper von der Maus führen können. Dies gilt besonders für Patienten, denen im Rahmen der Diagnose oder Therapie monoklonale Maus-Antikörper verabreicht wurden und dadurch sogenannte HAMA's (Humane Anti-Maus-Antikörper) entwickelt haben. Diese Proben können in solchen Assays verfälscchte Ergebnisse zeigen.[22-24] Daher sollten die Resultate dieser Patienten nur mit Vorsicht interpretiert werden.

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 ausgedrückt. (Alle Daten wurden — sofern nicht anders angegeben — aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Messbereich: 0,04–150 ng/ml
[WHO NIBSC 1st IS 96/670]

Analytische Sensitivität: 0,04 ng/ml

High-Dose-Hook-Effect:
Bis 4277 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. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Linearity“.)

Wiederfindung: Es wurden Proben gemessen, denen im Verhältnis 1:19 vier PSA Lösungen (107, 208, 653 und 817 ng/ml) zugesetzt wurden. (Siehe Tabelle „Recovery“ für representative Daten.)

Bilirubin: Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Biotin: Proben mit einer Biotin-Konzentration von 1500 ng/ml zeigen eine Änderung der PSA-Werte von weniger als oder gleich 10 % bzw. weniger als oder gleich 0,075 ng/ml, je nachdem, welcher Wert größer ist.

Höhere Biotinkonzentrationen können zu falsch niedrigen Ergebnissen für Patientenproben führen.

Biotinspiegel im Test (ng/ml)	PSA-Konzentration (ng/ml)		
	0,16	3,73	10,12
	Bias (%) oder Veränderung der Werte (ng/ml)		
1500	–0,02 ng/ml	–8%	–9%
3500	–0,02 ng/ml	–11%	–11%

Hämolyse: Erythrozytenkonzentrate haben in Konzentrationen bis zu 30 µl/ml keinen Einfluss auf die Messung, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride hat in Konzentrationen bis zu 5000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Spezifität: Der Assay ist hochspezifisch für prostataspezifisches Antigen (PSA) mit vernachlässigbarer Kreuzreaktivität zu natürlicherweise vorkommenden Substanzen oder Chemotherapeutika, die in Patientenproben vorkommen können. (Siehe Tabelle “Specificity”.)

Methodenvergleich: Alle vier nichtisotopischen Assays der wurden mittels Regressionsanalyse nach Deming verglichen. Alle berücksichtigten Proben haben Konzentrationen innerhalb der Messbereiche der Assays. Die Tabelle zeigt Ergebnisse der Regression nach Deming mit den Spalten als Y-Werte und den Reihen als X-Werte. (Siehe Tabelle „Method Comparison: Deming Regression“.)

Die Grafik zeigt den Vergleich zwischen IMMULITE 2000 PSA und IMMULITE PSA an 477 Patientenproben. (Konzentrationsbereich: nicht nachweisbar bis ca. 20 ng/ml. Siehe Grafik.) Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 0,94 (IML) – 0,11 ng/ml
r = 0,992

Mittelwert:
2,05 ng/ml (IMMULITE 2000)
2,30 ng/ml (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

PSA

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE 2000 — para la medición cuantitativa de antígeno prostático específico (PSA) en suero humano, como ayuda en la detección del cáncer de próstata cuando se utilice junto con la exploración mediante tacto rectal (DRE) en varones a partir de 50 años. Este ensayo está además indicado como test complementario y de ayuda en el control de los pacientes con cáncer de próstata.

Referencia: **L2KPS2** (200 tests)
L2KPS6 (600 tests)

Código del Test: **PSA**
Código de Color: **Marrón**

> La concentración de PSA para un espécimen determinado con diferentes ensayos puede variar debido a las diferencias en el método de ensayo y a la especificidad de los reactivos. Los resultados emitidos por un laboratorio deben incluir la identidad del ensayo utilizado. Los valores de PSA obtenidos con diferentes ensayos no son intercambiables. Antes de cambiar de método, el laboratorio debe confirmar los valores de los pacientes que se están monitorizando seriadamente.

Resumen y Explicación del Test

El antígeno protático específico (PSA), fue identificado y caracterizado por primera vez por Wang, et al en 1979, como una glicoproteína monomérica con tividad proteasa[1,2]. El PSA tiene un npunto isoeléctrico de 6,9 y un peso molecular de 33–34 kilodaltons; un 10% de su peso consiste en carbohidratos[1,2]. Se ha determinado su secuencia de aminoácidos[3], y se ha clonado su gen[4]. El PSA es bioquímica e inmunológicamente diferente del PAP y no exhibe actividad fosfatasa[5].

El PSA se localiza en el citoplasma del epitelio del conducto prostático y en las secreciones del mismo[6]. Debido a que el PSA es una proteína secretada de la próstata, se puede aislar y purificar a partir de tejido prostático y líquido seminal[7]. El PSA sólo ha sido encontrado en tejido prostático; y se han encontrado niveles elevados de PSA sérico en pacientes con cáncer de próstata, hipertrofia benigna de próstata y enfermadades inflamatorias de tejidos genitourinarios adyacentes, pero no se detecta en varones sanos, varones con carninoma no prostático, mujeres sanas o mujeres con cáncer[5,8].

El PSA en suero por si solo no es valido para el diagnostico de cancer de próstata debido a que pueden ser encontradas concentraciones elevadas de PSA en pacientes con hipertrofia prostática benigna (BPH)[8], no se recomienda como guía en enfermedad estacionaria. La combinación de la determinación de PSA y el tacto rectal con ultrasonidos puede ser un mejor método para detectar de cancer de próstata que el tacto rectal en solitario[9]. La medida cuantitativa del PSA ofrece importantes ventajas frente al tacto rectal y la ecografía en el cáncer de próstata: el resultado es objetivo, cuantitativo, y obtenido independientemente de la habilidad del examinador, y el procedimiento es mejor aceptado en el paciente que otros procedimientos[9].

Las determinaciones del PSA inmunoreactivo total pueden ser útiles para detectar enfermedades persistentes o metástasis en pacientes con cancer de próstata sometidos a tratamiento médico o quirurgico[10,11]. Una elevación persistente de PSA después del tratamiento, o un incremento de las concentraciones de PSA en el pretratamiento indican una enfermedad residyual o recurrente[12-16]. Por ello el PSA es ampliamente aceptado como una ayuda en el seguimiento de pacientes con cancer de próstata[12-16]. La determinación conjunta de PAP puede generar información adicional[17].

La Sociedad Americana del Cáncer recomienda el uso conjunto anual de un análisis de PSA en sangre y un examen

mediante tacto rectal a partir de los 50 años, en varones que tengan al menos 10 años de esperanza de vida así como varones que se tengan más probabilidad de riesgo. Se les debe facilitar información a los pacientes sobre los riesgos potenciales y los beneficios de una detección y tratamiento precoz. Y en varones que se encuentran en grupos de alto riesgo el scrrening puede considerarse a edades más tempranas por ejemplo 45 años[27].

Principio del análisis

IMMULITE 2000 PSA es un ensayo inmunométrico quimioluminiscente en fase sólida.

La fase sólida (bola) está recubierta con un anticuerpo policlonal de cabra frente PSA. La muestra del paciente y el reactivo son incubados junto con la bola recubierta con anticuerpo policlonal frente a PSA. El PSA de la muestra del paciente se une a un anticuerpo monoclonal de ratón frente a PSA conjugado con fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) y el anticuerpo frente a PSA de la bola para formar un complejo de anticuerpos tipo sandwich. El conjugado enzimático no unido es entonces eliminado mediante lavado y centrifugación. Finalmente, es añadido el sustrato quimioluminiscente a la bola y la señal es generada de manera proporcional a la cantidad de enzima unida.

Ciclos de incubación: 1 × 30 minutos

Recogida de la muestra

La muestras deben ser obtenidas antes de biopsia, prostatectomía o masaje prostático, ya que manipulaciones de la glándula prostática pueden provocar elevación de los valores de PSA que persisten durante 3 semanas[18].

Algunos estudios han mostrado resultados contradictorios en los niveles de PSA tras tacto rectal[19,20]. Por tanto, si es posible, obtener las muestras para PSA antes del tacto rectal.

El plasma EDTA no está recomendado para su uso.

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 centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El PSA IMMULITE 2000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos.

Volumen de Muestra: 10 µl de suero

Conservación: 2–8°C durante 48 horas o para almacenar por períodos más prolongados a –20°C[21].

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

¡PRECAUCIÓN! RIESGO BIOLÓGICO POTENCIAL
Contiene material de origen humano. Cada donación de sangre humana o componente sanguíneo ha sido probada por métodos aprobados por la FDA con el fin de detectar la presencia de anticuerpos de los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2), así como el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y el anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (VHC). Los resultados de estas pruebas fueron negativos (no repetidamente reactivos). Ninguna prueba ofrece total garantía de que en las muestras no haya estos agentes infecciosos u otros; por tanto, este material se deberá manipular conforme a las prácticas recomendables de laboratorio y las precauciones universales.[28-30]

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.

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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las canerias de cobre y plomo.

Sustrato quimioluminiscente: evite la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

Agua: Use agua destilada o desionizada.

Materiales Suministrados

Los componentes representan un set completo. Las etiquetas con códigos de barras son necesarias para el ensayo

Cartucho de bolas de PSA (L2PS12)
Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con policlonales de cabra anti-PSA antibody. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KPS2: 1 cartucho **L2KPS6:** 3 cartuchos

Vial de Reactivo de PSA (L2PSA2)
Con código de barras. 11,5 ml de fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con una anticuerpo monoclonal murino anti-PSA en una solución tampón con conservante. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KPS2: 1 vial **L2KPS6:** 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 PSA (LPSL, LPSH)
Dos viales (Low y High) 1,5 ml cada uno, conteniendo PSA en una matriz de suero de pollo/tampón, con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KPS2: 1 juego **L2KPS6:** 2 juegos

Antes de hacer un ajuste, colocar las etiquetas a las alícuotas apropiadas (suministradas con el kit) sobre tubos de ensayo, de forma tal que los códigos de barras puedan ser leídos por el lector.

Componentes del kit que se suministran por separado

Multidiluyente 2 (L2M2Z L2M2Z4)
Para la dilución en el equipo de las muestras de pacientes. Un vial de un concentrado listo para su uso de una matriz proteica no humana con conservantes. Conservación: 30 días (después de su apetura) a 2–8°C o 6 meses (alicuotado) a –20°C.
L2M2Z: 25 ml **L2M2Z4:** 55 ml

Se suministran etiquetas con códigos de barras para usarse con este diluyente. Antes de uso, colocar la etiqueta con el código de barras en un tubo de ensayo de 16 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2M2Z: 3 etiquetas **L2M2Z4:** 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 × 100 mm)
L2ZC: 250 Casquillos Del Tubo Del Diluyente De la Muestra

También necesarios
Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles

Ensayo

Aviso: para obtener un funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:
4 semanas

Muestras de Control de calidad: Seguir las reglamentaciones gubernamentales o los requisitos de acreditación para conocer la frecuencia de control de calidad.

Use controles o pools de muestrasro con dos niveles diferentes, como mínimo, de PSA (bajo y alto).

Siemens Healthcare Diagnostics recomienda el uso de materiales de control de calidad comercializados con al menos 2 niveles (bajo y alto). Un nivel de funcionamiento satisfactorio se consigue cuando los valores obtenidos del analito están dentro del rango de control aceptable para el sistema, o dentro del rango establecido determinado por un programa adecuado de control de calidad interno de laboratorio.

Valores esperados en la Detección del Cáncer de Próstata

En un estudio retrospectivo realizado en un centro clínico para la detección de cáncer de próstata, se recogieron muestras de 477 varones con edades superior a 50 ños. De estos, 20 (4%) eran asiáticos; 8 (2%) eran afroamericanos; 440 (92%) procedían del Caúcaso; 7 (< 1%) de otras procedencias y 2 (< 1%) se desconocía la información étnica. Se les sometió a todos los pacientes a exploración mediante tacto rectal (DRE). De estos, se biopsió a 52 debido a un valor elevado de PSA (> 4,0 ng/ml) y/ó tacto rectal (DRE) sospechoso. La siguiente tabla resume estos estudios clínicos:

No. de individuos (%)	No. de Biopsias (%)	No. de cánceres de Próstata	% Biopsias Positivas (95% CI)
Todos los Individuos			
477	52	18	34,6%
PSA > 4,0			
70	38	15	39,5%
14,7%	54,3%		(24,0%–55,7%)
DRE +			
54	17	8	47,1%
11,3%	31,5%		(25,3%–72,2%)
PSA > 4,0 DRE +			
23	12	6	50,0%
4,8%	52,2%		(23,6%–76,4%)
PSA ≤ 4,0 DRE +			
31	5	2	40,0%
6,5%	16,1%		(7,6%–81,1%)
PSA > 4,0 DRE –			
47	26	9	34,6%
9,9%	55,3%		(18,0%–54,2%)
PSA ≤ 4,0 DRE –			
376	9	1	11,1%
78,8%	2,4%		(0,3%–48,3%)

Este estudio demostró que el uso combinado del ensayo de PSA junto al tacto rectal (DRE) era más efectivo en la detección del cáncer de próstata que el tacto rectal (DRE) aislado. Las determinaciones de PSA detectaron el 50% (9/18) de los cánceres que el tacto rectal no fue capaz de detectar. Los incrementos por encima de 4 ng/ml pueden garantizar un análisis adicional incluso con tacto rectal negativo. Sin embargo el caso contrario también es posible: individuo con tacto rectal sospechoso y valor normal de PSA puede

requerir un análisis adicional ya que el tacto rectal (DRE) detectó el 11% (2/18) de los cánceres que las determinaciones de PSA que no fueron capaces de identificar.

En ese mismo estudio, se identificaron 376 participantes como individuos asintomáticos. La siguiente tabla recoge la distribución de los valores de PSA por décadas de edades de estos individuos asintomáticos, que resultaron negativos tanto en PSA y tacto rectal en el estudio clínico y que por lo tanto no fueron biopsiados, asi como para aquellos individuos con biopsia negativa. No hay certeza de que todos estos individuos estuvieran realmente libres de enfermedad prostática. Por lo tanto, estos datos deben ser interpretados con cautela ya que es cuestionable si estos individuos representan una población verdaderamente normal. No hay datos que demuestren que el uso de rangos espcíficos por edades sea más seguro o eficaz

Distribucion de los valores de PSA	***n***	**Mediana de PSA**	**PSA 95%il**
Todos los individuos	376	0,78	2,98
50–59 grupo de edad	159	0,60	2,30
60–69 grupo de edad	143	0,91	2,84
≥70 grupo de edad	74	1,17	3,17

En estudios realizados en cuatro centros clínicos, se recogieron para analizar 2618 muestras de 1965 patientes. Lo que se muestra más abajo es la distribución de los resultados de PSA IMMULITE obtenidos de este estudio.

Número de individuos / Muestras	0–4 ng/ml	4–10 ng/ml	10–20 ng/ml	20–40 ng/ml	>40 ng/ml
Mujeres					
253/253	100%	0%	0%	0%	0%
Sanas					
149/149	100%	0%	0%	0%	0%
Sin enfermedad maligna					
28/28	100%	0%	0%	0%	0%
Con enfermedad maligna					
76/76	100%	0%	0%	0%	0%
Varones sanos					
473/473	99,4%	0,6%	0%	0%	0%
Sin enfermedad maligna					
548/548	76,2%	19,3%	3,5%	0,9%	0%
BPH					
333/333	67,9%	25,8%	5,4%	0,9%	0%
Otras enfermedades prostáticas					
66/66	80,3%	18,2%	1,5%	0%	0%
Otras enfermedades no prostáticas					
149/149	93,2%	5,4%	0%	1,3%	0%
Sin enfermedad maligna no prostática					
312/312	93,0%	6,1%	0,6%	0,3%	0%
Con cáncer de Próstata (especimenes únicos					
274/274	42,3%	21,2%	13,1%	7,3%	16,1%
Con Cáncer de Prostata (monitorizados seriadamente)					
105/758	54,8%	11,7%	10,7%	7,5%	15,3%
Estadio A					
17/174	64,9%	9,8%	9,2%	3,5%	12,6%
Estadio B					
31/200	54,0%	14%	12%	8,5%	11,5%
Estadio C					
19/102	56,9%	6,9%	7,8%	8,8%	19,6%
Estadio D					
38/282	48,2%	13,1%	11,7%	8,9%	18,0%
Total:					
1965/2618	1962	275	138	83	160

Considerar estos límites como valor *guia*. Cada laboratorio de be establecer sus propios rangos de referencia.

Limitaciones

Las concentraciones de PSA en suero no deberán interpretarse como una prueba absoluta de la presencia o ausencia de una enfermedad maligna. El ensayo para PSA en suero por sí mismo no es suficiente como un análisis de detección de enfermedades malignas[8].

La predicción de la recurrencia de una enfermedad prostática maligna deberá basarse en una evaluación clínica completa del paciente, la cual también puede incluir determinaciones seriales de PSA sérico.

Las muestras deberán obtenerse antes de una biopsia, prostatectomía o masaje prostático, ya que la manipulación de la glándula prostática puede producir niveles elevados de PSA que pueden persistir por hasta 3 semanas[18].

La expresión de PSA puede estar alterada debido al tratamiento hormonal para el cáncer de próstata. Consecuentemente, la obtención de un resultado bajo de PSA, después de que el paciente recibe un tratamiento para el cáncer de próstata que incluye una terapia hormonal, puede no reflejar correctamente la presencia de una enfermedad residual o recurrente[25].

Algunos individuos tienen anticuerpos frente a proteinas de raton pueden provocar interferencias en los inmunoensayos que utilicen anticuerpos de ratones. En particular, las muestras de pacientes a las que se les suministre preparaciones que contengan de anticuerpos monoclonales de raton con fines terapéuticos ó de diagnóstico pueden contener anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA). Estas muestras pueden mostrar resultados erroneos en estos tratamientos[22-24]. Pueden contener anticuerpos humanos anti-ratón y por lotanto los resultados deben interpretarse con cautela.

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.)

Rango de trabajo: 0,04–150 ng/ml [WHO NIBSC 1st IS 96/670]

Sensibilidad: 0,04 ng/ml

Efecto de gancho a altas dosis: Ninguno hasta 4277 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. (Ver la tabla de “Precision”.)

Linealidad: Las muestras fueron analizadas con varias diluciones. (Ver la tabla de “Linearity” para resultados representativos.)

Recuperación: Se han analizado las muestras cargadas 1 a 19 con cuatro soluciones. (107, 208, 653 y 817 ng/ml) de PSA. (Ver la tabla de “Recovery” para resultados representativos.)

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina, en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Biotina: Las muestras que contienen biotina a una concentración de 1500 ng/ml muestran un cambio inferior o igual al 10% o inferior o igual a 0,075 ng/ml en los resultados de PSA, el que sea superior.

Las concentraciones de biotina superiores a esta pueden producir resultados falsamente disminuidos en las muestras de los pacientes.

	Concentración de PSA (ng/ml)		
Nivel de la prueba de biotina (ng/ml)	0,16	3,73	10,12
	Sesgo (%) o cambio en los resultados (ng/ml)		
1500	–0,02 ng/ml	–8%	–9%
3500	–0,02 ng/ml	–11%	–11%

Hemolisis: La presencia de eritrocitos hasta concentraciones de 30 µl/ml no tiene efecto en los resultados, en lo concerniente a la precisión del ensayo.

Lipemia: La presencia de triglicéridos en concentraciones hasta 5000 mg/dl no tiene efecto alguno en los resultados, en lo correspondiente a la precisión del ensayo.

Especificidad: El ensayo es altamente específico para el antígeno prostático específico, con muy baja reacción cruzada con otros componentes naturales y agentes derivados del tratamiento con quimioterapia que pudieran estar presentes en las muestras de los pacientes. (Ver la tabla de “Specificity”).

Comparación con otros métodos: Los cuatro ensayos no isotópicos fueron comparados utilizando un análisis por regresión de Deming. Las muestras utilizadas se encontraban dentro del rango de trabajo. La tabal a continuación represnta los resultgados de las regresiones de Deminge Deming regressions, donde las columnas representan al eje Y y las filas el eje X. (Ver la tabla de “Method Comparison: Deming Regression”.)

En el siguiente gráfico se muestra la comparación entre el PSA IMMULITE 2000 PSA y el PSA IMMULITE en 477 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: desde no detectables hasta, aproximadamente 20 ng/ml. Ver el gráfico.) Por regresión lineal:

(IML 2000) = 0,94 (IML) – 0,11 ng/ml
r = 0,992

Medias*:*
2,05 ng/ml (IMMULITE 2000)
2,30 ng/ml (IMMULITE)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

IMMULITE 2000 PSA

Domaine d'utilisation : dosage quantitatif de l'antigène spécifique de la prostate (PSA) dans le sérum humain. Réservé à un usage diagnostic *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000, ce test constitue une aide, lors d'une utilisation conjointe avec un examen par toucher rectal, pour la détection de cancer de la prostate chez les hommes âgés de 50 ans et plus. De plus, ce test complémentaire constitue une aide au suivi des patients atteints de cancer de la prostate.

Ce réactif est enregistré auprès de l'AFSSAPS.

Référence catalogue :
L2KPS2 (200 tests) **L2KPS6** (600 tests)

Code produit : **PSA**
Code couleur : **marron**

Pour un échantillon donné, la concentration d'antigène PSA mesuré avec les dosages provenant de différents fabricants peut varier en fonction des méthodes utilisées et de la spécificité des réactifs. Les résultats transmis par le laboratoire au médecin doivent impérativement mentionner la méthode de dosage utilisée. Les valeurs obtenues avec différentes méthodes de dosage de PSA ne sont pas interchangeables. Avant de changer de technique, le laboratoire doit impérativement confirmer les valeurs obtenues avec la technique précédente pour les patients suivis régulièrement.

Introduction

L'antigène spécifique de la prostate (PSA) est une glycoprotéine monomèrique possédant une activité protéasique qui a été identifiée et caractérisée pour la première fois par Wang et coll en 1979,[1,2] Le PSA a un point isoélectrique d'environ 6,9, un poids moléculaire de 33 000 à 34 000 Daltons et contient environ 10% de carbohydrates.[1,2] La séquence en acides aminés du PSA a été déterminée[3] et le

gène a été cloné.[4] Le PSA est biochimiquement et immunologiquement différent du PAP et il ne présente pas l'activité enzymatique d'une phosphatase.[5]

Le PSA est localisé dans le cytoplasme de l'épithélium du canal prostatique et dans les sécrétions de la lumière de ce canal.[6] Le PSA étant une protéine sécrétée par la prostate, il peut être isolé et purifié à partir du tissu prostatique et à partir du liquide séminal.[7] Le PSA est spécifique du tissu prostatique, des taux élevés ont été trouvés chez les malades atteints d'un cancer de la prostate, d'une hypertrophie prostatique bénigne ou d'inflammation des tissus génito-urinaires, mais jamais chez des hommes sains ou atteints de carcinomes non prostatiques et chez des femmes en bonne santé ou atteintes d'un cancer.[5,8]

Il est déconseillé d'utiliser le dosage du PSA sérique seul en tant que test de dépistage, des taux élevés étant également observables chez des patients atteints d'hypertrophie prostatique bénigne,[8] ainsi que comme une aide à la détermination du stade de la maladie. Par contre, l'association du dosage du PSA et de l'examen rectal par échographie, dans des cas pathologiques, fournira un meilleur diagnostic du cancer prostatique que l'examen rectal seul. Le dosage PSA présente plusieurs avantages par rapport à l'examen par toucher rectal ou les ultrasons pour la détection de cancer de la prostate : le résultat est objectif, quantitatif et ne dépend pas de l'expérience de l'examinateur, c'est une procédure comparativement mieux acceptée par les patients.[9]

Les dosages de PSA sont très utiles pour détecter une récidive métastatique ou une maladie résiduelle chez des patients suivis pour traitement médical ou chirurgical d'un cancer de la prostate.[10,11] Une élévation persistante du taux de PSA chez des patients sous traitement ou une augmentation des concentrations en PSA par rapport aux valeurs avant traitement sont des signes d'une maladie résiduelle ou d'une récidive.[12-16] Le dosage du PSA est largement reconnu comme une aide à la prise en charge des patients atteints de cancer de la prostate.[12-16] Un dosage complémentaire de PAP peut apporter des informations supplémentaires.[17]

L'American Cancer Society recommande de proposer chaque année un test sanguin PSA et un examen par toucher rectal à partir de l'âge de 50 ans, aux hommes ayant au moins 10 ans d'espérance de vie ainsi qu'à des hommes plus jeunes présentant un risque important. Les patients doivent être avertis des risques potentiels et des bénéfices de la détection précoce et du traitement. Les hommes appartenant au groupe présentant un risque important, tels que ceux ayant 2 parents ou plus atteints, peuvent commencer plus jeunes le dépistage, peut-être à 45 ans.[27]

Principe du test

IMMULITE 2000 PSA est un dosage chimiluminescent immunométrique, en phase solide.

La phase solide (bille) est revêtue d'anticorps polyclonaux de chèvre anti-PSA. L'échantillon du patient et le réactif sont incubés ensemble avec la bille revêtue d'anticorps polyclonaux anti-PSA. Le PSA dans l'échantillon du patient est lié à l'anticorps monoclonal murin anti-PSA conjugué à la phosphatase alcaline (intestins de veau) et à l'anticorps anti-PSA de la bille pour former un complexe anticorps-sandwich. Le conjugué enzymatique non lié est ensuite éliminé par lavage avec centrifugation axiale. Enfin, le substrat chimiluminescent est ajouté à la bille et le signal généré est proportionnel à l'enzyme liée.

Cycles d'incubation : 1 × 30 minutes

Recueil des échantillons

Les prélèvements devront avoir été réalisés avant biopsie, prostatectomie ou à distance d'un toucher rectal, dans la mesure où une manipulation de la prostate peut se traduire par des taux élevés d'antigène prostatique spécifique (PSA), susceptibles de persister pendant 3 semaines.[18]

Des études sont parvenues à des conclusions contradictoires quant à l'incidence d'un examen rectal sur le taux.[19,20] Aussi, dans la mesure du possible, réaliser les prélèvements pour le dosage PSA avant un toucher rectal.

Le plasma EDTA est déconseillé.

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 dûs 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 PSA 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 necessaire : 10 µl de sérum

Conservation : Stable à 2–8°C pendant 48 heures ou pour une conservation prolongée à –20°C.[21]

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.



AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL
Contient du matériel d'origine humaine. Chaque don de sang ou de composant sanguin humain a été testé selon des méthodes homologuées par la FDA afin de détecter la présence d'anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2), ainsi que la présence d'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) et d'anticorps anti-virus de l'hépatite C (VHC). Les résultats de ces tests se sont révélés négatifs (ou positifs mais de façon non répétable). Aucun test ne peut garantir totalement l'absence d'agents infectieux tels que ceux-ci ou d'autres. Par conséquent, ce matériel doit être manipulé conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux précautions universelles.[28-30]

ATTENTION : Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.

Conserver les réactifs à 2–8°C. Éliminer les déchets conformément aux lois en vigueur.

Suivre 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 dépistage négatif concernant les anticorps anti-VIH1 et 2, anticorps anti-HCV, antigène de surface de l'hépatite B, ainsi qu'un dépistage négatif vis à vis d'un test sérologique pour la Syphilis.

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 la contamination et l'exposition directe au soleil. (Voir notice.)

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 PSA (L2PS12)
Avec code-barres. 200 billes revêtues d'anticorps polyclonal de chèvre anti-PSA. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KPS2 : 1 cartouche
L2KPS6 : 3 cartouches

Cartouche à réactif PSA (L2PSA2)
Avec code-barres. 11,5 ml d'anticorps monoclonal murin anti-PSA marqué à la phosphatase alcaline (intestins de veau), dans un tampon avec conservateur. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KPS2 : 1 cartouche
L2KPS6 : 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 PSA (LPSL, LPSH)
Deux flacons (« haut » et « bas ») 1,5 ml chacun de PSA dans une matrice tampon/sérum de poulet avec conservateur. Stables à 2–8°C pendant 30 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KPS2 : 1 jeu **L2KPS6 :** 2 jeux

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

Composants du coffret fournis séparément

Multi-diluant 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Pour la dilution à bord des échantillons de concentration élevée. Un flacon contenant une matrice concentrée de tampon / protéines non-humaines avec conservateur (prêt à l'emploi). Stockage: 30 jours (après ouverture) à 2–8°C ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2M2Z : 25 ml **L2M2Z4 :** 55 ml

Les étiquttes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 × 100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2M2Z : 3 étiquettes
L2M2Z4 : 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 × 100 mm)
L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

Egalement requis
Eau distillée ou désionisée ; tubes ; contrôles

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000.

Voir le Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000 pour la préparation, le démarrage du système, la dilution, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé :
4 semaines

Echantillons pour le contrôle de qualité :
Suivre les réglementations gouvernementales et les exigences relatives aux accréditations en matière de fréquence de contrôle qualité.

Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) de PSA.

Siemens Healthcare Diagnostics recommande d'utiliser des échantillons de contrôle de qualité en vente dans le commerce et comprenant au moins 2 niveaux (bas et haut). Un niveau de performance satisfaisant est atteint lorsque les valeurs d'analyte obtenues se situent dans l'intervalle de contrôle acceptable du système ou dans un intervalle déterminé par un schéma de

contrôle de qualité approprié interne au laboratoire.

Valeurs attendues pour la détection des cancers de la prostate

Dans une étude rétrospective, réalisée dans un site clinique, sur la détection du cancer de la prostate, des échantillons provenant de 477 hommes, âgés de 50 ans et plus, ont été prélevés. Parmi ceux-ci 20 (4%) étaient asiatiques; 8 (2%) étaient afro-américains; 440 (92%) étaient caucasiens; 7 (< 1%) d'autres et 2 (< 1%) n'ont pas fourni d'information ethnique. Tous les patients ont également subi un toucher rectal, dont 52 ont eu une biopsie pour un taux élevé de PSA (> 4,0 ng/ml) et/ou un toucher rectal suspect. Le tableau suivant résume ces études cliniques :

Nombre de sujets	Nombre de biopsies	Nbre de cancers de la prostate	% de biopsies positives (95% CI)
Tous les sujets			
477	52	18	34,6%
PSA > 4,0			
70	38	15	39,5%
14,7%	54,3%		(24,0%–55,7%)
Toucher rectal +			
54	17	8	47,1%
11,3%	31,5%		(25,3%–72,2%)
PSA > 4,0 Toucher rectal +			
23	12	6	50,0%
4,8%	52,2%		(23,6%–76,4%)
PSA ≤ 4,0 Toucher rectal +			
31	5	2	40,0%
6,5%	16,1%		(7,6%–81,1%)
PSA > 4,0 Toucher rectal –			
47	26	9	34,6%
9,9%	55,3%		(18,0%–54,2%)
PSA ≤ 4,0 Toucher rectal –			
376	9	1	11,1%
78,8%	2,4%		(0,3%–48,3%)

L'étude démontre que le test PSA, utilisé conjointement avec le toucher rectal, est plus éfficace pour la détection du cancer de la prostate que le toucher rectal seul. Les dosages de PSA ont détecté 50 % (9/18) de cancers que le toucher rectal ne détectait pas; des augmentations du PSA au-delà de 4 ng/ml peuvent nécessiter des tests supplémentaires même si le toucher rectal est négatif. Cependant, l'inverse est également vrai : un sujet avec un toucher rectal suspect et un PSA normal peut aussi nécessiter des tests supplémentaires puisque le toucher rectal a détecté 11 % (2/18) de cancers que le dosage de PSA ne détectaient pas.

Dans cette même étude, 376 participants ont été indentifiés comme asymptomatiques. Le tableau suivant présente la distribution des valeurs de PSA par tranche d'âge pour ces sujets, asymptomatiques lors de l'étude clinique, ayant eu le dosage de PSA et le toucher rectal négatifs et n'ayant donc pas subi de biopsie, ainsi que les sujets trouvés négatifs lors de la biopsie. Il n'y a aucune certitude que ces sujets soient réellement exempts de maladies prostatiques. Aussi, ces données doivent être interprétées avec précaution puisque l'on peut se poser la question si ces sujets représentent une population vraiment normale. Il n'y a pas actuellement de données prouvant que l'utilisation de valeurs normales par tranche d'âge est sûre ou efficace.

Distribution des taux de PSA	***n***	**PSA Médiane**	**PSA 95^{tho}%ile**
Tous les sujets	376	0,78	2,98
50–59 ans	159	0,60	2,30
60–69 ans	143	0,91	2,84
≥70 anq	74	1,17	3,17

Dans des études réalisées dans quatre sites cliniques, 2618 échantillons provenant de 1965 patients ont été testés. La distribution des résultats du test IMMULITE PSA est indiquée ci-dessous.

Nbre sujets / Echantillons	0–4 ng/ml	4–10 ng/ml	10–20 ng/ml	20–40 ng/ml	>40 ng/ml
Femmes					
253/253	100%	0%	0%	0%	0%
En bonne santé					
149/149	100%	0%	0%	0%	0%
Pathologies bénignes					
28/28	100%	0%	0%	0%	0%
Pathologies malignes					
76/76	100%	0%	0%	0%	0%
Hommes en bonne santé					
473/473	99,4%	0,6%	0%	0%	0%
Pathologies bénignes					
548/548	76,2%	19,3%	3,5%	0,9%	0%
HBP					
333/333	67,9%	25,8%	5,4%	0,9%	0%
Autres pathologies prostatiques					
66/66	80,3%	18,2%	1,5%	0%	0%
Autres pathologies non prostatiques					
149/149	93,2%	5,4%	0%	1,3%	0%
Pathologies malignes non-prostatiques					
312/312	93,0%	6,1%	0,6%	0,3%	0%
Cancer de la prostate (échantillons isolés)					
274/274	42,3%	21,2%	13,1%	7,3%	16,1%
Cancer de la prostate (séries d'échantillons)					
105/758	54,8%	11,7%	10,7%	7,5%	15,3%
Stade A					
17/174	64,9%	9,8%	9,2%	3,5%	12,6%
Stade B					
31/200	54,0%	14%	12%	8,5%	11,5%
Stade C					
19/102	56,9%	6,9%	7,8%	8,8%	19,6%
Stade D					
38/282	48,2%	13,1%	11,7%	8,9%	18,0%
Total:					
1965/2618	1962	275	138	83	160

Utiliser ces valeurs *à titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

Limites

Une concentration sérique de PSA ne peut indiquer de façon absolue la présence ou l'absence de cancer. Le dosage du PSA sérique ne doit pas être utilisé seul comme test de dépistage d'un cancer.[8]

Le diagnostic de récurrence d'un cancer de la prostate doit se baser sur une évaluation clinique complète du patient, des mesures répétées du PSA sérique font partie des dosages à effectuer.

Les échantillons doivent être obtenus avant biopsie, prostatectomie ou toucher rectal. De telles interventions peuvent entrainer une augmentation de l'antigène prostatique spécifique (PSA), susceptible de durer 3 semaines.[18]

L'expression du PSA peut être modifiée par un traitement hormonal du cancer de la prostate. Par conséquent, un taux faible de PSA après un traitement par thérapie hormonale d'un cancer de la prostate n'indique pas obligatoirement l'absence d'un cancer résiduel ou récurrent.[25]

Certaines personnes ont des anticorps dirigés contre les protéines de souris qui peuvent interférer avec les immunodosages utilisant des anticorps murins. En particulier, les échantillons provenant de patients ayant reçu des préparations d'anticorps monoclonaux murins pour diagnostic ou thérapie peuvent contenir des anticorps humains anti-souris (HAMA). Ces échantillons peuvent donner des résultats erronés avec de tels dosages.[22-24] Aussi, les résultats pour de tels patients doivent être interprétés avec précaution.

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 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 activateur de la coagulation.)

Domaine de mesure : 0,04–150 ng/ml [WHO NIBSC 1st IS 96/670]

Sensibilité analytique : 0,04 ng/ml

Effet-crochet : aucun jusqu'à 4277 ng/ml

Précision : les échantillons sont dosés en double pendant 20 jours, deux séries par jours, soit 40 séries et 80 résultats au total. (Voir le tableau « Precision ».)

Linéarité : des échantillons ont été dosés à différentes concentrations. (Voir le tableau « Linearity » pour des données représentatives.)

Récupération: les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec quatre solutions (107, 208, 653 et 817 ng/ml). (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

Bilirubine : La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

Biotine : Les échantillons qui contiennent de la biotine à une concentration de 1500 ng/ml présentent une variation des résultats de PSA inférieure ou égale à 10% ou inférieure ou égale à 0,075 ng/ml, selon la plus élevée de ces valeurs.

Les concentrations de biotine supérieures à cela peuvent donner des résultats faussement bas pour les échantillons des patients.

	Concentration PSA (ng/ml)		
Niveau de valeurs de biotine (ng/ml)	0,16	3,73	10,12
	Biais (%) ou variation des résultats (ng/ml)		
1500	–0,02 ng/ml	–8%	–9%
3500	–0,02 ng/ml	–11%	–11%

Hémolyse : La présence d'agrégat d'hématies jusqu'à une concentration de 30 µl/ml, n'a aucun effet sur les résultats quant à la précision du dosage.

Lipémie : La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 5000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

Spécificité : Le dosage est hautement spécifique du PSA, avec une réactivité croisée particulièrement faible avec d'autres substances naturelles ou médicamenteuses susceptibles d'être retrouvées dans les échantillons. (Voir le tableau « Specificity ».)

Comparaison de méthode: Les quatre dosages de PSA non isotopiques ont été comparés en utilisant une analyse de régression de Deming. Les échantillons utilisés étaient compris dans le domaine de mesure. Le tableau présente les résultats des régressions de Deming avec les colonnes pour Y et les lignes pour X. (Voir le tableau « Method Comparison: Deming Regression ».)

Le graphique suivant présente la comparaison entre les tests IMMULITE 2000 PSA et IMMULITE PSA sur 477 échantillons de patients (dont les concentrations allaient de non détectable à environ 20 ng/ml. Voir graphique.)
Par régression linéaire :

(IML 2000) = 0,94 (IML) – 0,11 ng/ml
r = 0,992

Moyennes :
2,05 ng/ml (IMMULITE 2000)
2,30 ng/ml (IMMULITE)

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

Le Système Qualité de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. est certifié ISO 13485.

Italiano

IMMULITE 2000 PSA

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa dell'Antigene

Prostatico Specifico (PSA) nel siero umano, quale ausilio nell'individuazione del cancro della prostata se utilizzato unitamente all'esplorazione rettale (DRE) in uomini di 50 anni o più. Questo dosaggio è inoltre indicato quale test aggiuntivo nella gestione di pazienti affetti da cancro della prostata.

Codice: **L2KPS2** (200 test)
L2KPS6 (600 test)

Codice del Test: **PSA** Colore: **marrone**

La concentrazione di PSA in un dato campione determinata con dosaggi di produttori diversi può variare a causa delle differenze nei metodi utilizzati nei diversi dosaggi e nella specificità del reagente. I risultati comunicati dal laboratorio al medico devono includere le caratteristiche del dosaggio utilizzato. I valori ottenuti con diversi dosaggi del PSA non possono essere interscambiati. Prima di passare da un dosaggio all'altro, il laboratorio deve confermare i valori di base per i pazienti controllati serialmente.

Riassunto e Spiegazione del Test

L'Antigene Prostatico Specifico (PSA), inizialmente identificato e caratterizzato da Wang, et al. nel 1979 è una glicoproteina monomera con attività proteasica.[1,2] Il PSA ha un punto isoelettrico di circa 6,9 ed un peso molecolare di circa 33–34 chilo dalton; contiene approssimativamente il 10% di carboidrati.[1,2] E' stata individuata la sequenza aminoacidica del PSA,[3] ed è stato clonato il gene.[4] Il PSA è biochimicamente ed immunologicamente distinto dal PAP e non presenta attività enzimatico-fosfatasica.[5]

Il PSA è localizzato nel citoplasma dell'epitelio prostatico duttale ed in secrezioni del lumen duttale.[6] Poiché il PSA è una proteina secreta dalla prostata, può essere recuperata e purificata sia dal tessuto prostatico che dal plasma seminale.[7] E' stato scoperto che il PSA è unicamente associato al tessuto prostatico; un PSA sierico elevato è stato riscontrato in pazienti con cancro della prostata, ipertrofia prostatica benigna, ed infiammazioni di altri tessuti genito-urinari adiacenti, ma non in individui sani, uomini con carcinoma non prostatico, donne sane o donne affette da cancro.[5,8]

Il PSA sierico da solo non è idoneo quale screening del cancro prostatico poiché concentrazioni elevate di PSA vengono osservate anche in pazienti con ipertrofia prostatica benigna (BPH),[8] non è consigliato neppure quale guida nel verificare lo stato della malattia. Nel caso di rilevazioni anomale a seguito di esplorazione digito-rettale, la combinazione della misurazione del PSA e dell'esame citato, può costituire un metodo migliore per identificare il cancro della prostata di quanto non sia l'esame rettale della prostata di per sé stesso. Il dosaggio del PSA offre diversi vantaggi rispetto all'esplorazione digitale o all'ultrasonografia nell'individuazione del cancro della prostata: il risultato è obiettivo, quantitativo ed indipendente dall'abilità dell'utilizzatore e la procedura risulta più accettabile per il paziente rispetto ad altre.[9]

Determinazioni del PSA immunoreattivo totale possono essere utili nell'individuazione di patologie metastatiche o persistenze a seguito di interventi chirurgici o terapie del cancro prostatico.[10,11] Un aumento persistente del PSA a seguito di terapie o un aumento nelle concentrazioni di PSA nel pretrattamento è indicativo di una malattia residua o ricorrente.[12-16] Pertanto, il PSA è ampiamente accettato come ausilio nella gestione dei pazienti con carcinoma prostatico.[12-16] La misurazione simultanea di PAP può fornire ulteriori informazioni.[17]

L'American Cancer Society consiglia di effettuare annualmente sia il test del PSA su sangue che l'esplorazione digito-rettale, a cominciare dai 50 anni, sia per uomini che presentino un'aspettativa di vita di almeno 10 anni, che per uomini più giovani ad elevato rischio. I pazienti devono essere informati sui rischi potenziali e sui benefici di un'individuazione e di un trattamento precoci. Gli uomini ad elevato rischio quali coloro che hanno uno o più parenti di primo grado affetti da questa patologia possono considerare di effettuare lo screening molto prima, intorno ai 45 anni.[27]

Principio del Dosaggio

IMMULITE 2000 PSA è un dosaggio immunometrico in chemiluminescenza e in fase solida.

La fase solida (sferetta) è coattata con anticorpo policlonale di capra anti-PSA. Il campione e il reagente vengono incubati insieme alla sferetta coattata con anticorpo policlonale anti-PSA. Il PSA nel campione è legato alla fosfatasi alcalina (intestino di vitello) – coniugata all'anticorpo monoclonale murino anti-PSA e l'anticorpo PSA sulla sferetta per formare un complesso. Il coniugato enzimatico non legato è quindi rimosso attraverso un lavaggio a centrifuga. Infine, il substrato chemiluminescente viene aggiunto alla sferetta e viene prodotto un segnale in proporzione all'enzima legato.

Cicli d'incubazione: 1 × 30 minuti

Prelievo del Campione

I campioni devono essere ottenuti prima della biopsia, della prostatectomia o del massaggio prostatico, poichè la manipolazione della prostata può causare livelli di PSA elevati che persistono fino a 3 settimane.[18]

Studi hanno dimostrato risultati contrastanti sull'esistenza di un effetto sui valori del PSA a seguito di un esame digito-rettale, utilizzando i dosaggi del PSA convenzionali.[19,20] Per questo motivo, è consigliabile prelevare i campioni di PSA prima di detto esame.

Non utilizzare plasma EDTA.

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

I campioni emolizzati possono indicare un trattamento non idoneo del campione prima dell'arrivo al laboratorio; per questo motivo, i risultati devono essere interpretati con prudenza.

La centrifugazione dei campioni di siero prima che la coagulazione sia completa può produrre fibrina. Per evitare risultati errati dovuti alla presenza di fibrina, assicurarsi che il processo di coagulazione sia completo prima di centrifugare i campioni. Alcuni campioni, in modo particolare quelli di pazienti sottoposti a terapia con anticoagulanti, possono richiedere tempi di coagulazione più lunghi.

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. L'IMMULITE 2000 PSA non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette.

Volume richiesto: 10 µL di siero

Conservazione: Stabile a 2–8°C per 48 ore o per una conservazione prolungata a –20°C.[21]

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.



ATTENZIONE! POTENZIALE PERICOLO BIOLOGICO
Contiene materiale di origine umana. Ciascuna donazione di sangue o componenti ematici umani è stata testata con metodi approvati dalla FDA per rilevare la presenza di anticorpi al virus dell'immunodeficienza umana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2), nonché per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e gli anticorpi al virus dell'epatite C (HCV). I risultati del test sono stati negativi (non ripetutamente reattivi). Nessun test offre assicurazione completa che questi o altri agenti infettivi siano assenti; questo materiale va trattato utilizzando le corrette prassi di laboratorio e le precauzioni universali.[28-30]

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale portatore e trasmettitore di agenti patogeni.

Reagenti: Conservare i reagenti a 2–8°C. Eliminare in conformità alle leggi vigenti.

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se fossero potenzialmente infetti. I materiali di origine umana sono stati testati con esito negativo 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 unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

Contenitore di Sferette PSA (L2PS12)
Con codice a barre. 200 sferette coattate con un anticorpo policlonale di capra anti-PSA. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KPS2: 1 confezione
L2KPS6: 3 confezioni

Porta Reagente PSA (L2PSA2)
Con codice a barre. 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con un anticorpo monoclonale murino anti-PSA in un tampone, con conservanti. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KPS2: 1 porta reagente
L2KPS6: 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.

Calibratori PSA (LPSL, LPSH)
Due flaconi (Basso ed Alto) con 1,5 mL di PSA in una matrice/ tampone di siero pollino, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KPS2: 1 set **L2KPS6:** 2 set

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste sulle provette delle aliquote (fornite col kit), cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore.

Componenti del kit forniti Separatamente

Multidiluente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Per la diluizione interna di campioni prelevati. Un flacone di tampone proteico non umano concentrato (pronto all'uso) con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2M2Z: 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

Vengono fornite le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm cosicchè i codici a barre possano essere letti dal lettore interno
L2M2Z: 3 etichette **L2M2Z4:** 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 × 100 mm) per Diluente del Campione
L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluente del Campione

Materiali richiesti
Acqua distillata o deionizzata; provette di vetro; controlli

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato:
4 settimane

Campioni per il Controllo di Qualità:
Per la frequenza del controllo di qualità seguire le normative in vigore o i requisiti di accreditamento.

Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (Alto e Basso) di PSA.

Siemens Healthcare Diagnostics consiglia l'utilizzo di materiali di controllo della qualità disponibili in commercio con almeno 2 livelli (bassi e alti). Un livello soddisfacente di prestazioni si raggiunge

quando i valori dell'analita ottenuti rientrano nei range di accettabilità del Controllo per il sistema o nei range stabiliti all'interno del laboratorio attraverso un programma appropriato di valutazione del controllo di qualità.

Valori Attesi nell'Individuazione del Cancro Prostatico

In uno studio retrospettivo in un Centro clinico per l'individuazione del cancro della prostata, sono stati prelevati campioni da 477 uomini di 50 anni e più. Di questi, 20 (4%) erano Asiatici; 8 (2%) erano Afro-Americani; 440 (92%) erano Caucasici; 7 (< 1%) erano di altre etnie e 2 (< 1%) non hanno fornito informazioni sull'etnia. Tutti i pazienti erano stati sottoposti ad esplorazione digito-rettale (DRE). Di questi, 52 erano stati sottoposti a biopsia per PSA elevato (> 4,0 ng/mL) e/o sospetta DRE. La tabella di seguito riassume questi studi clinici:

No. Pazienti (%)	No. Biopsie (%)	No. casi di Cancro della Prostata	% Biopsie Positive (95% CI)
Tutti i pazienti			
477	52	18	34,6%
PSA > 4,0			
70	38	15	39,5%
14,7%	54,3%		(24,0%–55,7%)
DRE +			
54	17	8	47,1%
11,3%	31,5%		(25,3%–72,2%)
PSA > 4,0 DRE +			
23	12	6	50,0%
4,8%	52,2%		(23,6%–76,4%)
PSA ≤ 4,0 DRE +			
31	5	2	40,0%
6,5%	16,1%		(7,6%–81,1%)
PSA > 4,0 DRE –			
47	26	9	34,6%
9,9%	55,3%		(18,0%–54,2%)
PSA ≤ 4,0 DRE –			
376	9	1	11,1%
78,8%	2,4%		(0,3%–48,3%)

Lo studio ha dimostrato che il test del PSA qualora utilizzato unitamente alla DRE si dimostra più efficace nell'individuazione del cancro della prostata di quanto non sia la DRE da sola. Le determinazioni del PSA hanno individuato il 50% (9/18) dei casi di cancro che non erano stati individuati dalla DRE; valori di PSA più elevati di 4 ng/mL possono rendere necessari test ulteriori anche se la DRE è negativa. Tuttavia è valido anche il caso contrario: un paziente con sospetta DRE e valori di PSA normali può richiedere test ulteriori poiché la DRE ha individuato l'11% (2/18) dei casi di cancro che non erano stati individuati dalle determinazioni del PSA.

Nello stesso studio sono stati identificati 376 partecipanti come soggetti asintomatici. La tabella riportata di seguito contiene la distribuzione dei valori di PSA divisi per decade di età per i pazienti asintomatici che presentavano un PSA ed una DRE negativi, e quindi, non sottoposti a biopsia cosiccome quei pazienti che sono risultati negativi alla biopsia. Non siamo certi che tutti questi pazienti siano privi di patologie prostatiche. Quindi, questi dati devono essere interpretati con attenzione poiché è opinabile se questi pazienti possano o no essere rappresentativi di una popolazione normale. Ad oggi non esistono dati che provino che l'utilizzo di range di riferimento specifici per età siano sicuri o efficaci.

Distribuzione dei Livelli di PSA	***n***	**PSA Valore Mediano**	**PSA 95°%ile**
Tutti i pazienti	376	0,78	2,98
Gruppo 50–59	159	0,60	2,30
Gruppo 60–69	143	0,91	2,84
Gruppo ≥70	74	1,17	3,17

In studi effettuati presso quattro centri, sono stati testati 2618 campioni prelevati da 1965 pazienti. Di seguito è riportata la distribuzione dei risultati del test IMMULITE PSA in questo studio.

Numero di Pazienti / Campioni	0–4 ng/mL	4–10 ng/mL	10–20 ng/mL	20–40 ng/mL	>40 ng/mL
Donne					
253/253	100%	0%	0%	0%	0%
Sane					
149/149	100%	0%	0%	0%	0%

Affette da Patologie non Maligne

Numero di Pazienti / Campioni	0–4 ng/mL	4–10 ng/mL	10–20 ng/mL	20–40 ng/mL	>40 ng/mL
28/28	100%	0%	0%	0%	0%
Affette da Patologie Maligne					
76/76	100%	0%	0%	0%	0%
Uomini Sani					
473/473	99,4%	0,6%	0%	0%	0%
Affetti da Patologie non Maligne					
548/548	76,2%	19,3%	3,5%	0,9%	0%
BPH					
333/333	67,9%	25,8%	5,4%	0,9%	0%
Altre Patologie Prostatiche					
66/66	80,3%	18,2%	1,5%	0%	0%
Altre Patologie non Prostatiche					
149/149	93,2%	5,4%	0%	1,3%	0%
Patologie Maligne non Prostatiche					
312/312	93,0%	6,1%	0,6%	0,3%	0%
Cancro della Prostata (campioni singoli)					
274/274	42,3%	21,2%	13,1%	7,3%	16,1%
Cancro della Prostata (monitorato serialmente)					
105/758	54,8%	11,7%	10,7%	7,5%	15,3%
Stadio A					
17/174	64,9%	9,8%	9,2%	3,5%	12,6%
Stadio B					
31/200	54,0%	14%	12%	8,5%	11,5%
Stadio C					
19/102	56,9%	6,9%	7,8%	8,8%	19,6%
Stadio D					
38/282	48,2%	13,1%	11,7%	8,9%	18,0%
Totale:					
1965/2618	1962	275	138	83	160

Detti valori dovrebbero essere considerati solo come *suggerimento*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

Limiti

Le concentrazioni di PSA nel siero non dovrebbero essere interpretate come evidenza assoluta della presenza o assenza di patologie maligne, e le concentrazioni di PSA nel siero non dovrebbero essere utilizzate da sole come prova per rilevare la presenza di una patologia maligna.[8]

La previsione di una recidiva di una patologia prostatica maligna dovrebbe essere basata su una valutazione clinica completa del paziente, che può anche includere determinazioni seriali del PSA nel siero.

I campioni devono essere ottenuti prima della biopsia, della prostatectomia o del massaggio prostatico, poichè la manipolazione della prostata può causare livelli di PSA elevati che persistono fino a 3 settimane.[18]

L'espressione del PSA libero può essere alterata a causa della terapia ormonale per il cancro della prostata. Di consequenza, è possibile che un risultato basso in seguito al trattamento del cancro prostatico tramite terapia ormonale non rispecchi in maniera idonea la presenza della malattia recidiva o residua.[25]

Alcuni individui presentano anticorpi anti proteine di topo che possono interferire negli immunodosaggi che fanno uso di anticorpi murini. In particolare, i campioni di pazienti cui sono stati somministrati preparati di anticorpi monoclonali murini per la diagnosi o la terapia possono contenere anticorpi umani anti-topo (HAMA). Questi campioni possono presentare risultati errati con questi dosaggi.[22-24] Per tali pazienti i risultati devono essere interpretati con cautela.

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 dati *rappresentativi* delle prestazioni del dosaggio. I risultati sono espressi in ng/mL. (Se non diversamente annotato, tutti i risultati sono stati generati da campioni di siero raccolti in provette senza barriere di gelo additivi che favoriscano la coagulazione.)

Fattore di Calibrazione: 0,04–150 ng/mL [WHO NIBSC 1st IS 96/670]

Sensibilità Analitica: 0,04 ng/mL

Effetto Gancio a Dosi Elevate: Nessuno fino a 4277 ng/mL

Precisione: I campioni sono stati processati nel corso di 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 1:19 ai quali sono state aggiunte quattro soluzioni di PSA (107, 208, 653 e 817 ng/mL). (Vedi Tabella “Recovery” per dati rappresentativi.)

Bilirubina: La presenza di bilirubina in concentrazioni fino a 200 mg/L non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Biotina: I campioni che contengono biotina a una concentrazione di 1500 ng/mL mostrano una variazione inferiore o uguale al 10% o inferiore o uguale a 0,075 ng/mL nei risultati del PSA, a seconda di quale sia maggiore.

Concentrazioni di biotina superiori a questa potrebbero portare a risultati falsamente elevati nei campioni dei pazienti.

Livello test biotina (ng/mL)	Concentrazione PSA (ng/mL)		
	0,16	3,73	10,12
	Bias (%) o variazione nei risultati (ng/mL)		
1500	–0,02 ng/mL	–8%	–9%
3500	–0,02 ng/mL	–11%	–11%

Emolisi: La presenza di globuli rossi impaccati in concentrazioni fino a 30 µL/mL non ha effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Lipemia: La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 5000 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Specificità: Il dosaggio IMMULITE 2000 PSA libero è molto specifico per l'antigene prostatico specifico, con una crossreattività particolarmente bassa verso altri composti che si trovano in natura e agenti chemioterapici che possono essere presenti nei campioni dei pazienti. (Vedi Tabella “Specificity”.)

Comparazione di Metodi: Tutte e quattro i dosaggi non-isotopici del PSA sono stati comparati utilizzando l'analisi della regressione di Deming. I campioni utilizzati rientravano all'interno del range di lavoro dei dosaggi. La tabella di seguito riportata presenta i risultati delle regressioni di Deming, con le colonne utilizzate per le Y e le righe per le X. (Vedi Tabella “Method Comparison: Deming Regression”.)

Il grafico seguente presenta la comparazione tra PSA IMMULITE 2000 e PSA IMMULITE su 477 campioni. (Range di concentrazione: da non rilevabile a circa 20 ng/mL. Vedi grafico.) Mediante regressione lineare:

(IML 2000) = 0,94 (IML) – 0,11 ng/mL
r = 0,992

Valore medio*:*
2,05 ng/mL (IMMULITE 2000)
2,30 ng/mL (IMMULITE)

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore Nazionale.

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

PSA

Utilização: Para uso em diagnóstico *in vitro* com os Analisadores dos Sistemas IMMULITE 2000 — para o doseamento

quantitative do antigénio especifico da prostata (PSA) no soro humano, como auxiliar na detecção do cancro da prostata quando usado em conjunto com o toque rectal (TR) em homens com 50 ou mais anos. Este teste é também indicado como auxiliar na monotorização de doentes com cancro da prostata.

Números de catálogo:
L2KPS2 (200 testes),
L2KPS6 (600 testes)

Código do teste: **PSA** Cor: **Castanho**

A concentração de PSA numa determinado amostra com doseamentos de diferentes fabricantes pode variar devido a diferenças em métodos de doseamento e especificidade do reagente. Os resultados apresentados pelo laboratório ao médico devem incluir a identificação do doseamento utilizado. Valores obtidos com diferentes doseamentos de PSA não podem ser comparados. Antes de mudar o doseamento, o laboratório deve confirmar os valores de base para doentes que estão a ser monotorizados.

Sumário e explicação do teste

O antigénio específico da próstata (PSA-"prostate specific antigen"), identificado e caracterizado por Wang, et al. Em 1979, é uma glicoproteína monomérica com actividade proteolítica[1,2]. O PSA tem um ponto isoeléctrico de aproximadamente 6,9 e um P.M. de 33–34 KD; contém aproximadamente 10% de hidratos de carbono por massa[1,2]. A sequência de aminoácidos é conhecida[3], e o gene já foi clonado[4]. O PSA é bioquímica e imunológicamente distinto do PAP e não apresenta actividade enzimática de fosfatase[5].

O PSA localiza-se no citoplasma das células do epitélio do ducto prostático e em secreções de lumina ductal[6]. Uma vez que o PSA é uma proteína segregada pela próstata, pode ser obtido e purificado a partir de tecido da próstata e do plasma seminal[7]. O PSA tem sido associado exclusivamente ao tecido da próstata; e valores elevados de PSA têm sido encontrados em doentes com tumor na próstata, hipertrofia benigna da próstata, e condições inflamatórias de outros tecidos genitais adjacentes, mas não em homens saudáveis, homens com tumores não prostáticos, mulheres saudáveis ou mulheres com cancro[5,8].

O PSA serológico por si só não é suficiente para o rastreio de cancro na próstata, uma vez que também se encontram concentrações elevadas de PSA em doentes com hipertrofia benigna da próstata (BPH-"benign prostatic hypertrophy") [8], nem tão pouco é recomendado como indicador do estado da doença. A combinação do dosamento de PSA com o exame rectal por ultrasonografia, no caso de se encontrarem situações anormais, pode fornecer um método de melhor detecção de tumor na próstata do que só o exame rectal. O doseamento de PSA oferece várias vantagens sobre o toque rectal ou a ultrasonografia na detecção do cancro da prostata: o resultado é objectivo, quantitativo, e obtido independentemente da perícia do examinador, e é melhor aceite pelos doentes que os outros procedimentos[9].

O doseamento do PSA total imunoreactivo pode ser útil na detecção de metásteses ou de doença persistente em doentes após cirurgia ou tratamento do tumor da próstata[10,11]. Uma elevação persistente dos níveis de PSA após tratamento ou um aumento das concentrações de PSA pré-tratamento é um indicador de recorrência ou de doença residual[12-16]. Assim o PSA é largamente aceite como um apoio no acompanhamento de doentes com com tumor na próstata[12-16]. Um doseamento de PAP poderá contribuir com informação adicional[17].

A Sociedade Americana do Cancro recomendou que o teste sanguíneo do PSA e o exame rectal sejam efectuados anualmente, a partir dos 50 anos, a homens com uma expectativa de vida mínima de 10 anos, bem como a homens mais novos com alto risco. Os doentes devem receber informações acerca dos potenciais riscos e beneficios de uma detecção e tratamento precoces. Homens em grupos de risco, como os que tenham dois ou mais familiars de primeiro grau afectados, devem considerar a hipotese de efectuar o rastreio numa idade inferior, provavelmente aos 45 anos[27].

Princípio do procedimento

A PSA IMMULITE 2000 é um ensaio imunométrico de fase sólida quimioluminescente.

A fase sólida (esfera) é revestida com anticorpo policlonal de cabra anti-PSA. A amostra do paciente e o reagente são então incubados com a esfera revestida com anticorpo policlonal anti-PSA. O PSA na amostra de paciente liga-se á fosfatase alcalina (de intestino de vitela) e conjugado de anticorpo monoclonal murino anti-PSA e o anticorpo de PSA na esfera de modo a formar um complexo de sandwich/anticorpo. A enzima conjugada não ligada é então removida por lavagem centrifuga. Finalmente é adicionada substrato quimioluminescente á esfera obtendo-se um sinal proporcional á enzima ligada.

Ciclos de incubação: 1 × 30 minutos

Colheita

As amostras devem ser obtidas antes do exame rectal, biópsia, prostatectomia ou massagem prostática, uma vez que a manipulação da próstata pode levar a níveis elevados de PSA que persistem até 3 semanas[18].

Os estudos demonstraram resultados conflituosos sobre a existência de um efeito do toque rectal no nível de PSA usando os doseamentos convencionais de PSA[19,20]. Portanto quando possível obtenha amostras de PSA antes do toque rectal.

O plasma EDTA não é recomendado para uso.

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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 PSA não foram ainda testados com todas as possiveis variações originadas pelos tipos de tubos.

Volume de amostra: 10 µL de soro

Estabilidade: Estável 48 horas a 2–8°C ou para armazenamentos mais prolongados a –20°C[21].

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.



PRECAUÇÃO! POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO
Contém material de origem humana. Cada dádiva de sangue ou componente de sangue humano foi testada pelos métodos aprovados pela FDA quanto à presença de anticorpos dos vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e tipo 2 (VIH-2), bem como do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e dos anticorpos do vírus da hepatite C (VHC). Os resultados dos testes foram negativos (não repetidamente reativos). Nenhum teste oferece total garantia de que estes ou outros agentes infeciosos estejam ausentes; este material deve ser manuseado de acordo com as boas práticas laboratoriais e precauções universais.[28-30]

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as normas aplicadas.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas, obtidas de soro humano, foram testadas, dando 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.

A azida sódica foi adicionada como conservante a concentrações inferiores a 0,1 g/dL. Quando eliminar o produto, utilize água em abundância para evitar a acumulação de azidas metálicas potencialmente explosivas nas canalizações de chumbo e cobre.

Substrato quimioluminescente: Evite contaminação e exposição directa à luz directa (ver bula).

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 PSA (L2PS12)
Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com anticorpo policlonal anti-PSA de cabra. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KPS2: 1 embalagem
L2KPS6: 3 embalagens

Embalagem de reagentes de PSA (L2PSA2)
Com código de barras. Contém 11,5 mL de fosfatase alcalina (intestino de bezerro bovino) conjugada com um anticorpo monoclonal anti-PSA de murino com conservante. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KPS2: 1 embalagem
L2KPS6: 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 PSA (LPSL LPSH)
Contém dois frascos (nível alto e baixo) cada um contendo 1,5 mL de PSA numa matriz de soro/tampão de galinha com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KPS2: 1 conjunto **L2KPS6:** 2 conjuntos

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas da alíquota apropriada (fornecidas com o "kit") em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Multidiluente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Para diluição no instrumento de amostras de doentes. Um frasco, de concentrado (pronto a usar) constituido por uma matriz de base proteíca não humana, com conservante. Estabilidade: 30 dias (após abertura) a 2–8°C ou 6 meses (em alíquotas) a –20°C.
L2M2Z: 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2M2Z: 3 etiquetas **L2M2Z4:** 5 etiquetas

L2SUBM: Substrato quiomioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Kit de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)
L2ZT: 250 Tubos de diluente da amostra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

Também necessário
Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos

Procedimento do doseamento

Ter em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000.

Consultar o Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000 relativamente aos procedimentos de preparação, diluição, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável: 4 semanas.

Amostras de controlo de qualidade: Observe os regulamentos governamentais ou os requisitos de acreditação quanto à frequência do controlo de qualidade.

Utilize controlos ou "pools" com pelo menos dois níveis (alto e baixo) de PSA.

A Siemens Healthcare Diagnostics recomenda a utilização de materiais de controlo de qualidade comercialmente disponíveis com pelo menos 2 níveis (baixo e alto). É alcançado um nível de desempenho satisfatório quando os valores dos analitos obtidos estiverem dentro dos Limites de Controlo Aceitáveis para o sistema ou dentro dos limites estabelecidos e determinados pelo regime de controlo de qualidade laboratorial interno adequado.

Valores Esperados na Detecção do Cancro da Prostata

Num estudo retrospectivo realizado num local com o propósito de detectar o cancro da prostata, as amostras foram colhidas de 477 homens, com 50 ou mais anos. Destes, 20 (4%) eram Asiáticos; 8 (2%) eram Afro Americanos; 440 (92%) eram Caucasianos; 7 (< 1%) eram de outras etnias e 2 (< 1%) não tinham informações acerca da etnia. Todos os doentes efectuaram exame rectal. Destes, 52 efectuaram biopsia devido ao valor do PSA (> 4,0 ng/mL) e/ou toque rectal suspeito. Os resultados destes estudos estão contidos nas tabelas seguintes.

No. de Casos (%)	No. de Biopsias (%)	No. de Cancros Prostata	% Biopsias Positivas (95% CI)
Todos os casos			
477	52	18	34,6%
PSA > 4,0			
70	38	15	39,5%
14,7%	54,3%		(24,0%–55,7%)
TR +			
54	17	8	47,1%
11,3%	31,5%		(25,3%–72,2%)
PSA > 4,0 TR +			
23	12	6	50,0%
4,8%	52,2%		(23,6%–76,4%)
PSA ≤ 4,0 TR +			
31	5	2	40,0%
6,5%	16,5%		(7,6%–81,1%)
PSA > 4,0 TR –			
47	26	9	34,6%
9,9%	55,3%		(18,0%–54,2%)
PSA ≤ 4,0 TR –			
376	9	1	11,1%
78,8%	2,4%		(0,3%–48,3%)

O estudo demonstra que o teste de PSA quando usado em combinação com o TR, é mais efectivo na detecção do cancro da prostata que apenas o TR. As determinações de PSA detectam 50% (9/18) dos cancros que o TR não detecta; valores de PSA superiores a 4 ng/mL devem sugerir testes adicionais mesmo que o TR seja negativo. Contudo, o contrário também é verdade: uma situação com um TR suspeito e um PSA normal deve também requerer testes adicionais visto o TR detectar 11% (2/18) dos cancros que as determinações de PSA não detectam.

No mesmo estudo, 376 participantes foram identificados como assintomáticos. A tabela seguinte contem a distribuição dos valores de PSA por idades (décadas) para estes individuos assintomáticos que nos estudos efectuados tiveram resultados negativos para o PSA e TR, e portanto não foram sujeitos a biopsia, assim como os individuos que tiveram uma biopsia negativa. Não há contudo a certeza que todos estes individuos não tenham alguma doença prostática. Assim, estes dados devem ser interpretados com precaução visto ser questionavel que estes individuos representem uma população verdadeiramente normal. Não existem presentemente dados que provem que o uso de valores de referência em função da idade seja segura ou efectiva.

Distribuição dos niveis de PSA	*n*	PSA Mediana	PSA 95%
Todos individuos	376	0,78	2,98
Grupo 50–59 anos	159	0,60	2,30
Grupo 60–69 anos	143	0,91	2,84
Grupo ≥70 anos	74	1,17	3,17

Nos estudos clinicos efectuados em 4 locais, foram testadas 2618 amostras colhidas de 1965 doentes. A tabela seguinte mostra a distribuição dos resultados do IMMULITE PSA destes estudos.

Número de individuos / amostras	0–4 ng/mL	4–10 ng/mL	10–20 ng/mL	20–40 ng/mL	>40 ng/mL
Mulheres					
253/253	100%	0%	0%	0%	0%
Saudáveis					
149/149	100%	0%	0%	0%	0%
Doenças não malignas					
28/28	100%	0%	0%	0%	0%
Doenças malignas					
76/76	100%	0%	0%	0%	0%
Homens Saudáveis					
473/473	99,4%	0,6%	0%	0%	0%
Doenças não malignas					
548/548	76,2%	19,3%	3,5%	0,9%	0%
HBP					
333/333	67,9%	25,8%	5,4%	0,9%	0%
Outras Doenças Prostaticas					
66/66	80,3%	18,2%	1,5%	0%	0%
Otras Doenças Não Prostaticas					
149/149	93,2%	5,4%	0%	1,3%	0%
Doenças Malignas Não Prostaticas					
312/312	93,0%	6,1%	0,6%	0,3%	0%
Cancro da Prostata (amostra unica)					
274/274	42,3%	21,2%	13,1%	7,3%	16,1%
Cancro da Prostata (amostras seriadas)					
105/758	54,8%	11,7%	10,7%	7,5%	15,3%
Estadio A					
17/174	64,9%	9,8%	9,2%	3,5%	12,6%
Estadio B					
31/200	54,0%	14%	12%	8,5%	11,5%
Estadio C					
19/102	56,9%	6,9%	7,8%	8,8%	19,6%
Estadio D					
38/282	48,2%	13,1%	11,7%	8,9%	18,0%
Total:					
1965/2618	1962	275	138	83	160

Estes valores devem ser considerados apenas como *directrizes*. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores.

Limitações

As concentrações plasmáticas de PSA não devem ser interpretadas como evidência absoluta da presença ou ausência de doença maligna e o PSA sérico não deverá ser usado isoladamente como teste de triagem para doença maligna[8].

A previsão de recorrência da doença prostática maligna deverá estar baseada numa avaliação clínica completa do doente, que pode também incluir determinações seriadas de PSA plasmático.

As amostras devem ser obtidas antes do exame rectal, biópsia, prostatectomia ou massagem prostática, uma vez que a manipulação da próstata pode levar a níveis elevados de PSA que persistem até 3 semanas[18].

A expressão do PSA pode ser alterada devido à terapia hormonal para o cancro da próstata. Consequentemente, um resultado baixo de PSA após um tratamento de cancro da próstata que incluia terapia hormonal pode não reflectir adequadamente a presença de doença residual ou recorrente[25].

Alguns indivíduos possuem anticorpos para a proteína do rato que podem causar interferência nos imuno-ensaios que empregam anticorpos derivados do rato.

As amostras de doentes que receberam preparações de anticorpos monoclonais de ratos para diagnósticos ou terapia, em particular, podem conter anticorpos anti-rato (HAMA). Essas amostras podem mostrar resultados incorrectos em tais doseamentos[22-24]. Portanto, os resultados destes doentes devem ser interpretados com precaução.

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

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.)

Calibração: 0,04–150 ng/mL
[WHO NIBSC 1st IS 96/670]

Sensibilidade Analítica: 0,04 ng/mL

Efeito Hook de Alta Dose: Nenhum até 4277 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 várias diluições. (Ver a tabela de "Linearity" para dados representativos.)

Recuperação: As amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 com quatro soluções PSA (107, 208, 653 e 817 ng/mL) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

Bilirrubina: A presença de bilirrubina em concentrações até 200 mg/L não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Biotina: As amostras que contêm biotina a uma concentração de 1500 ng/mL apresentam uma alteração inferior a ou igual a 10% ou inferior a ou igual a 0,075 ng/mL nos resultados de PSA, conforme o valor maior.

Concentrações de biotina superiores a esta poderão originar resultados falsamente diminuídos para as amostras de doentes.

	Concentração de PSA (ng/mL)		
Nível do teste de biotina (ng/mL)	0,16	3,73	10,12
	Compensação (%) ou alteração nos resultados (ng/mL)		
1500	–0,02 ng/mL	–8%	–9%
3500	–0,02 ng/mL	–11%	–11%

Hemolise: A Presença de eritrocitos em concentrações até 30 µL/mL não tem efeito no resultado, dentro da precisão do ensaio.

Lipemia: A presença de trigliceridos em concentrações até 5000 mg/dL não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Especificidade: O doseamento é altamente específico para o antígenio específico da próstata, com uma reactividade cruzada particularmente baixa para outros compostos que ocorrem naturalmente e agentes quimioterapêuticos que podem estar presentes em amostras de doentes. (Ver tabela de "Specificity".)

Comparação de métodos: Todos os quartos testes não isotópicos para o PSA foram comparados usando uma análise de regressão de Deming. As amostras usadas estão dentro da zona de trabalho do ensaio. A tabela apresenta os resultados da regressão de Deming, com as colunas como Y, e as linhas como X.

(Ver tabela de "Method Comparison: Deming Regression".)

Os gráficos seguintes mostram a comparação entre o IMMULITE 2000 PSA e IMMULITE PSA em 477 amostras. (Zona de trabalho: não detectável a aproximadamente 20 ng/mL. Ver gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 0,94 (IML) – 0,11 ng/mL
r = 0,992

Médias*:*
2,05 ng/mL (IMMULITE 2000)
2,30 ng/mL (IMMULITE)

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE is a trademark of
Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2020 Siemens Healthcare Diagnostics.
All rights reserved.

Origin: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

CE 0197

2020-05-29

PIL2KPS – 23

cc#EU23657, cc#EU23657A, cc#EU23664

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol Definition

IVD

En: *in vitro* diagnostic medical device
De: Medizinisches Gerät zur *in vitro* Diagnose
Es: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
Fr: Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
It: Dispositivo medico per diagnostica *in vitro*
Pt: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

REF

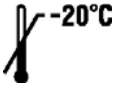
En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo

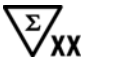
En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante

EC REP

En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia

Symbol	Definition
CE	**En:** CE Mark **De:** CE-Kennzeichen **Es:** Marca CE **Fr:** Marque CE **It:** Marchio CE **Pt:** Marca CE
CE XXXX	**En:** CE Mark with identification number of notified body **De:** CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle **Es:** Marca CE con número de identificación del organismo notificado **Fr:** Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié **It:** Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato **Pt:** Marca CE, com número de identificação do organismo notificado
	**En:** Consult instructions for use **De:** Bedienungshinweise beachten **Es:** Consulte las instrucciones de uso **Fr:** Consulter le mode d'emploi **It:** Consultare le istruzioni per l'uso **Pt:** Consulte as instruções de utilização
	**En:** Caution! Potential Biohazard **De:** Vorsicht! Biologisches Risikomaterial **Es:** ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial **Fr:** Avertissement ! Risque biologique potentiel **It:** Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico **Pt:** Atenção! Potenciais Riscos Biológicos
	**En:** Temperature limitation (2–8°C) **De:** Temperaturgrenze (2–8°C) **Es:** Limitación de temperatura (2–8°C) **Fr:** Limites de température (2–8°C) **It:** Limiti di temperatura (2–8°C) **Pt:** Limites de temperatura (2–8°C)

Symbol	Definition
	**En:** Upper limit of temperature (≤ -20°C) **De:** Obere Temperaturgrenze (≤ -20°C) **Es:** Límite superior de temperatura (≤ -20°C) **Fr:** Limite supérieure de température (≤ -20°C) **It:** Limite superiore di temperatura (≤ -20°C) **Pt:** Limite máximo de temperatura (≤ -20°C)
	**En:** Lower limit of temperature (≥ 2°C) **De:** Mindesttemperatur (≥ 2°C) **Es:** Límite inferior de temperatura (≥ 2°C) **Fr:** Limite inférieure de température (≥ 2°C) **It:** Limite inferiore di temperatura (≥ 2°C) **Pt:** Limite mínimo de temperatura (≥ 2°C)
	**En:** Do not freeze (> 0°C) **De:** Nicht einfrieren (> 0°C) **Es:** No congelar (> 0°C) **Fr:** Ne pas congeler (> 0°C) **It:** Non congelare (> 0°C) **Pt:** Não congelar (> 0°C)
	**En:** Do not reuse **De:** Nicht zur Wiederverwendung **Es:** No reutilizar **Fr:** Ne pas réutiliser **It:** Non riutilizzare **Pt:** Não reutilizar
	**En:** Keep away from sunlight **De:** Vor Sonneneinstrahlung schützen **Es:** Proteger de la luz solar **Fr:** Maintenir hors de portée de la lumière du soleil **It:** Non esporre alla luce del sole **Pt:** Manter afastado da luz solar
LOT	**En:** Batch code **De:** Chargenbezeichnung **Es:** Número de lote **Fr:** Numéro de code du lot **It:** Codice lotto **Pt:** Código de lote

Symbol	Definition
	**En:** Contains sufficient for (n) tests **De:** Es reicht für (n) Tests **Es:** Contiene suficiente para (n) pruebas **Fr:** Contient du matériel suffisant pour (n) tests **It:** Contiene materiale sufficiente per (n) test **Pt:** Contém o suficiente para (n) testes
2008-01	**En:** Date format (year-month) **De:** Datumsformat (Jahr-Monat) **Es:** Formato de fecha (año-mes) **Fr:** Format de la date (année-mois) **It:** Formato data (anno-mese) **Pt:** Formato de data (ano-mês)
	**En:** Use by **De:** Verwendbar bis **Es:** Fecha de caducidad **Fr:** A utiliser avant **It:** Usare entro **Pt:** Usar até
	**En:** Health Hazard **De:** Gesundheitsgefährdung **Es:** Peligro para la salud **Fr:** Dangereux pour la santé **It:** Pericolo per la salute **Pt:** Perigo para a saúde
	**En:** Exclamation Mark **De:** Ausrufezeichen **Es:** Signo de exclamación **Fr:** Point d'exclamation **It:** Punto esclamativo **Pt:** Ponto de exclamação
	**En:** Corrosion **De:** Korrosion **Es:** Corrosión **Fr:** Corrosion **It:** Corrosione **Pt:** Corrosão
	**En:** Skull and Crossbones **De:** Totenkopf mit gekreuzten Knochen **Es:** Calavera y tibias cruzadas **Fr:** Tête de mort sur tibias croisés **It:** Teschio e tibie incrociate **Pt:** Caveira sobre tíbias cruzadas
	**En:** Environment **De:** Umwelt **Es:** Medio ambiente **Fr:** Environnement **It:** Ambiente **Pt:** Ambiente

Symbol	Definition
BEAD PACK	**En:** Bead Pack **De:** Kugel-Container **Es:** Cartucho de bolas **Fr:** Cartouche de billes **It:** Contenitore di biglie **Pt:** Embalagem de esferas
TEST UNIT	**En:** Test Unit **De:** Testeinheit **Es:** Unidades de análisis **Fr:** Unité de test **It:** Test Unit **Pt:** Unidades de Teste
REAG WEDGE **REAG WEDGE A** **REAG WEDGE B** **REAG WEDGE D**	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste

Symbol	Definition
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL CONTROL 1 CONTROL 2 CONTROL 3	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo

Symbol	Definition
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

Total IgE

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 Total IgE

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the quantitative measurement of immunoglobulin type E (IgE) in serum.

Catalog Number: **L2KIE2** (200 tests) **L2KIE6** (600 tests)

Test Code: **TIE** Color: **Violet**

Summary and Explanation

Modern laboratory methods for allergy testing are based on the comparatively recent discovery that many allergies are mediated by immunoglobulins of the IgE class acting as points of contact between the allergen and specialized cells.[4,5,7,9,10] The IgE molecules, which have a molecular mass of approximately 200,000, bind to the surface of mast cells and basophilic granulocytes.[2,3] Subsequent binding of allergens to cell-bound IgE causes these cells to release histamines and other vasoactive substances, thereby initiating the events which we recognize as an allergic reaction.[10]

In deciding on a course of therapy, it is important to distinguish between IgE-mediated and non-IgE-mediated reactions.[4,7] Measurement of the total circulating IgE level, in conjunction with other supporting diagnostic information, can aid in making this diagnosis. The supporting information should include appropriate tests for allergen-specific IgE. Measurement of the total circulating IgE level may also be of value in the early detection of allergy in infants, and as a means for predicting future atopic manifestations.[4,6,7]

IgE levels normally show a slow increase during childhood, reaching adult levels in the second decade of life.[1,8] In general, the total IgE level increases with the number of allergies which a person has and with the amount of exposure to relevant allergens.[5,7]

Significant elevations may be encountered not only in sensitized individuals, but also in cases of IgE myeloma, pulmonary aspergillosis, and during the active stage of parasitic infestations.[4,5,7,9]

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 Total IgE is a solid-phase, chemiluminescent immunometric assay.

Incubation Cycles: 1 × 30 minutes
Time to First Result: 35 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 Total IgE has not been tested with all possible variations of tube types.

Volume Required: 5 µL serum

Storage: 3 days at 2–8°C,[13,15] or 6 months at –20°C.[15]

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.

Total IgE Bead Pack (L2IE12)
With barcode. 200 beads, coated with monoclonal mouse anti-IgE. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KIE2: 1 pack **L2KIE6:** 3 packs

Total IgE Reagent Wedge (L2IEA2)
With barcode. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to polyclonal goat anti-IgE antibody in buffer, with preservative. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KIE2: 1 wedge **L2KIE6:** 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.

Total IgE Adjustors (LIEL, LIEH)
Two vials (Low and High), 2.5 mL each, of IgE in a nonhuman serum/buffer matrix, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KIE2: 1 set **L2KIE6:** 2 sets

Before making an adjustment, place the appropriate Aliquot Labels (supplied with the kit) on test tubes so that the barcodes can be read by the on-board reader.

Kit Components Supplied Separately

Multi-Diluent 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
For on-board dilution of samples. One vial, concentrated (ready-to-use), nonhuman protein/buffer matrix, with preservative.
Storage: 30 days (after opening) at 2–8°C or 6 months (aliquotted) at –20°C. Dispose of in accordance with applicable laws.
L2M2Z: 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.
L2M2Z: 3 labels **L2M2Z4:** 5 labels

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate
L2PWSM: Probe Wash
L2KPM: Probe Cleaning Kit
LRXT: Reaction Tubes (disposable)
L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

IECM: Bi-level, human serum-based control module containing IgE

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 Systems Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Systems 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 total IgE.

Expected Values

Based on its relationship to IMMULITE Total IgE (see Method Comparison), the assay can be expected to have essentially the same reference ranges for nonatopic individuals.

Age (years)	Median (IU/mL)	95%ile (IU/mL)
0–1	6.6	29
1–2	10.1	49
2–3	12.9	45
3–9	14.4	52
Adult	20.4	87

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

Limitations

Serum total IgE levels for the majority of individuals with IgE-mediated disease can be expected to be elevated compared to the reference range for healthy adults. However, not all allergic patients exhibit elevated serum total IgE levels.[11]

Since not all atopic reactions are IgE-mediated, a total IgE result in the reference range should always be interpreted in light of other clinical observations.

Tests for allergen-specific IgE may clarify the finding of an elevated total IgE result.

Heterophilic antibodies in human serum can react with the immunoglobulins included in the assay components causing interference with *in vitro* immunoassays. [See Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34: 27-33.] Samples from patients routinely exposed to animals or animal serum products can demonstrate this type of interference potentially causing an anomalous result. These reagents have been formulated to minimize the risk of interference; however, potential interactions between rare sera and test components can occur. For diagnostic purposes, the results obtained from this assay should always be used in combination with the clinical examination, patient medical history, and other findings.

Performance Data

See Tables and Graphs for data *representative* of the assay's performance. Results are expressed in IU/mL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Conversion Factor:
IU/mL × 2.4 → ng/mL
IU/mL × 1 → kIU/L

Calibration Range: up to 2000 IU/mL. Standardized in reference to WHO 2nd IRP 75/502.

Analytical Sensitivity: 1.0 IU/mL

High-dose Hook: No effect up to 13,000 IU/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. The results show that the IMMULITE 2000 Total IgE kit maintains good linearity throughout its calibration range; but due to the heterogeneity of circulating IgE with different affinities, there may be a loss of dilutional parallelism in certain patients. (See "Linearity" table for representative data.)

Recovery: Samples spiked 1 to 19 with three total IgE solutions (1750, 3500 and 7000 IU/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The assay is highly specific for human IgE and exhibits no crossreactivity to other human immunoglobulin classes.

Bilirubin: Presence of 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 384 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 5000 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Method Comparison: The assay was compared to IMMULITE Total IgE on 175 samples. (Concentration range: approximately 2 to 1600 IU/mL. See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 0.96 (IML) + 10.0 IU/mL
r = 0.988

Means:
225 IU/mL (IMMULITE 2000)
223 IU/mL (IMMULITE)

References

1) Barbee RA, et al. Distribution of IgE in a community population sample: correlation with age, sex and allergen skin test reactivity. J Allergy Clin Immunol 1981;68:106–11. 2) Geha RS. Human IgE. J Allergy Clin Immunol 1984;74:109–20. 3) Gordon RR, et al. Immunoglobulin E and the eczema-asthma syndrome in early childhood. Lancet 1982;1: 72–74. 4) Halpern GM. Markers of human allergic disease. J Clin Immunoassay 1983 Jun;6(2):131–39. 5) Hamilton RG, Adkinson NF. Clinical laboratory methods in allergic disease. Lab Management 1983 Dec;21(12):37–50. 6) Hamilton RG, Adkinson NF. Quantitation of allergen-specific IgE in serum using the radioallergosorbent test. J Clin Immunoassay 1983 Jun;6(12):147–54. 7) Homberger HA, Yunginger JW. Laboratory testing in the diagnosis and management of allergic diseases. Clin Lab Annual 1983;2:351–88. 8) Kjellman N-IM, Johansson SGO, Roth A. Serum IgE levels in healthy children. Clin Allergy 1976;6:51–59. 9) Mandy FF, Perelmutter L. Laboratory measurement of total human serum IgE. J Clin Immunoassay 1983 Jun;6(2):140–46. 10) Norman PS. The clinical significance of IgE. Hosp Pract 1975 Aug;10(8):41–9. 11) Yunginger JW. Clinical significance of IgE. In: Middleton E, et al, editors. Allergy principles and practice. Vol 2. 3rd ed. St. Louis: C.V. Mosby, 1988:849-60. 12) 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. 13) Bazaral M, Hamburger RN. Standardization and stability of immunoglobulin E (IgE). J Allerg Clin Immunol 1972;49:189-91. 14) Nye L, Merrett TG, Landon J, White RJ. A detailed investigation of circulating IgE levels in a normal population. Clin Allergy 1975;1:13-24. 15) Tietz NW, editor. Clinical guide to laboratory tests. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1995:358.

Technical Assistance

In the United States, contact Siemens Healthcare Diagnostics Technical Services department. Tel: 877.229.3711. Outside the United States, contact your National Distributor.

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485:2003.

Tables and Graphs

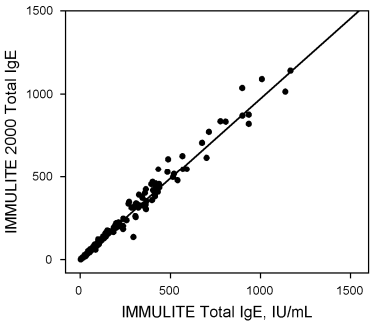
Precision (IU/mL)

		Within-Run[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	50	1.65	3.3%	2.54	5.1%
2	107	4.78	4.5%	7.20	6.7%
3	223	9.85	4.4%	15.0	6.7%
4	600	24.4	4.1%	38.3	6.4%

Linearity (IU/mL)

	Dilution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	8 in 8	14	—	—
	4 in 8	6.4	7.0	91%
	2 in 8	3.8	3.5	109%
	1 in 8	1.8	1.8	100%
2	8 in 8	21	—	—
	4 in 8	11	11	100%
	2 in 8	5.4	5.3	102%
	1 in 8	3.1	2.6	119%
3	8 in 8	195	—	—
	4 in 8	106	98	108%
	2 in 8	47	49	96%
	1 in 8	26	24	108%
4	8 in 8	267	—	—
	4 in 8	133	134	99%
	2 in 8	68	67	102%
	1 in 8	34	33	103%
5	8 in 8	411	—	—
	4 in 8	207	206	101%
	2 in 8	97	103	94%
	1 in 8	46	51	90%
6	8 in 8	823	—	—
	4 in 8	415	412	101%
	2 in 8	225	206	109%
	1 in 8	121	103	118%
7	8 in 8	838	—	—
	4 in 8	381	419	91%
	2 in 8	201	210	96%
	1 in 8	107	105	102%
8	8 in 8	1050	—	—
	4 in 8	536	525	102%
	2 in 8	255	263	97%
	1 in 8	134	131	102%

Method Comparison



(IML 2000) = 0.96 (IML) + 10.0 IU/mL
r = 0.988

Recovery (IU/mL)

	Solution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	—	11.3	—	—
	A	90.2	98.2	92%
	B	178	186	96%
	C	333	361	92%
2	—	42.3	—	—
	A	121	128	95%
	B	207	215	96%
	C	380	390	97%
3	—	108	—	—
	A	200	190	105%
	B	266	278	96%
	C	427	453	94%
4	—	159	—	—
	A	236	239	99%
	B	323	326	99%
	C	558	501	111%
5	—	258	—	—
	A	327	333	98%
	B	429	420	102%
	C	636	595	107%
6	—	467	—	—
	A	521	531	98%
	B	625	619	101%
	C	905	794	114%

Deutsch. **Precision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]S (Standardabweichung), [5]CV

(Variationskoeffizient). **Linearity**: [1]Verdünnung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Lösung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E. **Method Comparison.** Total IgE: Gesamt IgE.

Español. **Precision**: [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV. **Linearity**: [1] Dilución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 en 8. **Recovery**: [1]Solución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Method Comparison.** Total IgE: IgE Total.

Français. **Precision:** [1]Intra-essai, [2]Totale, [3]Moyenne, [4]DS, [5]CV. **Linearity:** [1]Dilution, [2]Observée (O), [3]Attendue (A), [4]%O/A, [5]8 dans 8. **Recovery:** [1]Solution, [2]Observée (O), [3]Attendue (A), [4]%O/A. **Method Comparison:** Total IgE: IgE totales

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity**: [1]Diluizione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Soluzione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A. **Method Comparison.** Total IgE: IgE Totali.

Português. **Precision**: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação. **Linearity**: [1]Diluição, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 em 8. **Recovery**: [1]Solução, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Method Comparison.** Total IgE: IgE Total.

Deutsch

Gesamt IgE – IMMULITE 2000

Anwendung: Zur *In-vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme — zur quantitativen Messung von Immunoglobulin E (IgE) im Serum.

Artikelnummern: **L2KIE2** (200 Tests) **L2KIE6** (600 Tests)

Testcode: **TIE** Farbe: **violett**

Klinische Relevanz

Die moderne Laboratoriumsdiagnostik allergischer Erkrankungen basiert auf der Erkenntnis, dass Allergien häufig durch Immunglobulin E (IgE) vermittelt werden. IgE knüpft dabei den Kontakt zwischen dem Allergen und spezialisierten Zellen.[4,5, 7,9,10] Die IgE Moleküle haben ein Molekulargewicht von circa 200 000 und binden an die Oberfläche von Mastzellen und basophilen Granulozyten.[2,3] Die anschließende Bindung von Allergenen an zellgebundenes IgE veranlasst diese Zellen zur Ausschüttung von Histaminen und anderen vasoaktiven Substanzen. Sie lösen so die als allergische Reaktion bekannten klinischen Symptome aus.[10]

Für eine Therapieentscheidung sind die IgE-vermittelten von den nicht IgE-vermittelten Reaktionen zu unterscheiden.[4,7] Dabei kann die Messung von zirkulierendem Gesamt IgE zusammen mit zusätzlichen klinischen Daten die Diagnosestellung unterstützen. Weitere Informationen sollten auch den Nachweis von allergen-spezifischem IgE beinhalten. Die Gesamt IgE-Bestimmung kann auch die frühe Diagnose allergischer Erkrankung bei Kindern und die Vorhersage künftiger atopischer Manifestationen unterstützen.[4,6,7]

Der IgE Spiegel steigt in der Kindheit normalerweise langsam an und erreicht den Konzentrationsbereich von Erwachsenen normalerweise innerhalb des zweiten Lebensjahrzehnts.[1,8] Im allgemeinen steigt der Gesamt IgE Spiegel mit der Zahl allergischer Manifestationen eines Patienten und mit der Häufigkeit der Exposition für ein relevantes Allergen.[5,7]

Ein deutlicher Anstieg des IgE ist nicht alleine auf sensibilisierte Personen beschränkt, sondern findet sich auch bei Patienten mit Myelomen, pulmonarer Aspergillose, und akutem Parasitenbefall bei denen vermehrt IgE produziert wird.[4,5,7,9]

Methodik

IMMULITE 2000 Gesamt IgE ist ein Festphasen, Chemilumineszenz immunometrischer Assay.

Inkubationszyklen: 1 × 30 Minuten
Zeit zum ersten Ergebnis: 35 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 zurückhaltend zu interpretieren.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter 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 Gesamt IgE sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden.

Erforderliche Menge: 5 µl Serum

Lagerung: 3 Tage bei 2–8°C[13,15] oder 6 Monate bei –20°C.[15]

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) als Konservierungsmittel hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu verhindern, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

Chemilumineszenz-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.

Gesamt IgE Kugel-Container (L2IE12)
Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit monoklonalen Anti-IgE-Antikörpern (Maus). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KIE2: 1 Container **L2KIE6:** 3 Container

Gesamt IgE- Reagenzbehälter (L2IEA2)
Mit Barcode. 11,5 ml alkalische Phosphatase (Kalb) konjugiert mit polyklonalen Anti-IgE-Antikörpern (Ziege) in Pufferlösung (mit Konservierungsmittel). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.
L2KIE2: 1 Behälter **L2KIE6:** 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.

Gesamt IgE- Kalibratoren (LIEL, LIEH)
Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) mit jeweils 2,5 ml IgE-Antikörpern in einer nicht-humanen Serum/Puffer matrix (mit Konservierungsmittel). 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KIE2: 1 Set **L2KIE6:** 2 Sets

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Glasöhrchen kleben, so daß die Barcodes vom Barcodereader des Systems gelesen werden können.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

Multiverdünnung 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Zum automatischen Verdünnen der Proben. Eine Flasche mit einem gebrauchsfertigen Konzentrat aus einer nicht-humanen Protein/ Puffer-Matrix versetzt mit Konservierungsstoffen. Lagerung: 30 Tage (nach Öffnen) bei 2–8°C oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert). Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften

entsorgen.
L2M2Z: 25 ml **L2M2Z4:** 55 ml

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2M2Z: 3 Etiketten **L2M2Z4:** 5 Etiketten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße
L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm) für die Probenverdünnung
L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

IECM: Kontrollen in 2 Konzentrationen, enthalten IgE-Antikörper in Humanserum

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Röhrchen; Kontrollen

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Verdünnung, Kalibration, Test- und Qualitätskontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
2 Wochen

Proben zur Qualitätskontrolle:
Kontrollen oder Sammelserum mit Gesamt IgE in mindestens zwei Konzentrationen (niedrig und hoch) verwenden.

Referenzwerte

Entsprechend seinem Verhältnis zum IMMULITE Gesamt IgE (siehe „Methodenvergleich") kann für den Assay ein identischer Referenzbereich für Nicht-Atopiker angegeben werden.

Alter (Jahre)	Median (IU/ml)	95%ile (IU/ml)
0–1	6,6	29
1–2	10,1	49
2–3	12,9	45
3–9	14,4	52
Erwachsene	20,4	87

Diese Grenzwerte sind lediglich als *Richtlinien* aufzufassen. Jedes Labor sollte seine eigenen Referenzbereiche etablieren.

Grenzen der Methode

Für die Mehrzahl an IgE-vermittelten Allergien leidender Patienten sind Serumspiegel von Gesamt IgE oberhalb der Referenzbereiche gesunder Probanden zu erwarten, jedoch ist die Serumkonzentrationen von Gesamt IgE nicht bei allen allergischen Patienten erhöht.[11]

Da nicht alle atopischen Reaktionen IgE-vermittelt sind, sollte ein Ergebnis innerhalb der Referenzbereiche stets im Kontext mit allen verfügbaren weiteren klinischen Daten interpretiert werden.

Bei erhöhtem Gesamt IgE kann der Nachweis von allergen-spezifischem IgE nützliche Zusatzinformationen liefern.

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 von der Norm abweichenden abnormalen anomalen Resultaten führen. Die verwendeten Reagenzien sind so konzipiert, dass das Risiko einer Interferenz mit den zu messenden Proben minimiert ist. Dennoch können potentiell Interaktionen zwischen seltenen Seren und den Testkomponenten auftreten. Zu diagnostischen Zwecken sollten die mit dem Assay erhaltenen Ergebnisse immer in Kombination mit der klinischen Untersuchung, der Patientenanamnese und anderen Befunden gesehen werden.

Leistungsdaten

Siehe Tabellen und Grafiken mit *repräsentativen* Daten für den Assay. Die Ergebnisse sind als IU/ml ausgedrückt. (Alle Daten wurden — sofern nicht anders angegeben — aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Umrechnungsfaktor:
IU/ml × 2,4 → ng/ml
IU/ml × 1 → kIU/l

Messbereich: Bis 2000 IU/ml
(WHO 2nd IRP 75/502)

Analytische Sensitivität: 1,0 IU/ml

High-dose Hook Effekt: Keiner bis 13 000 IU/ml

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Testansätzen in Doppelbestimmung gemessen (insgesamt 40 Durchläufe und 80 Einzelmessungen). (Siehe Tabelle *"Precision"*.)

Linearität: Proben wurden in verschiedenen Verdünnungen getestet. Die gefunden Ergebnisse zeigen, dass das Gesamt IgE IMMULITE 2000 eine gute Linearität im gesamten Bereich der Kalibration besitzt. Zu beachten ist jedoch, dass aufgrund der Heterogenität des zirkulierenden IgE mit unterschiedlichen Affinitäten bei vereinzelten Patienten ein Verlust der Verdünnungslinearität auftreten können. (Siehe Tabelle *"Linearity"*.)

Wiederfindung: Die getesteten Proben waren mit drei verschiedenen IgE-haltigen Lösungen (1750, 3500 und 7000 IU/ml) im Verhältnis von 1:19 versetzt. (Siehe Tabelle *"Recovery"*.)

Spezifität: Der Assay ist hochspezifisch für humanes IgE und zeigt keine Kreuzreaktivität zu anderen humanen Immunoglobulinklassen.

Bilirubin: Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 384 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride haben in Konzentrationen bis zu 5000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Methodenvergleich: Der Assay wurde unter Verwendung von 175 Patientenproben mit IMMULITE Gesamt IgE Assay verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 2 bis 1600 IU/ml. Siehe Grafik.) Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 0,96 (IML) + 10,0 IU/ml
r = 0,988

Mittelwert:
225 IU/ml (IMMULITE 2000)
223 IU/ml (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485:2003.

Español

IMMULITE 2000 IgE Total

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE 2000 — para la medición cuantitativa de inmunoglobulina E (IgE) en suero.

Números de Catálogo: **L2KIE2** (200 tests) **L2KIE6** (600 tests)

Código del Test: **TIE**
Código de Color: **Violeta**

Resumen y Explicación del Test

Actualmente los métodos para el diagnóstico de la alergia, están basados en que la mayoría de las alergias son mediadas por inmunoglobulinas IgE, que actuan como punto de contacto entre el alergeno y celulas especializadas[4,5,7,9,10]. Las IgE poseen un peso molecular de aproximadamente 200 000 Daltons y se unen a la superficie de mastocitos y granulocitos basófilos[2,3]. La unión de los alergenos a la IgE unida a la celula provoca que lancen al espacio extracelular histamina y otras sustancias

vasoactivas, iniciando así la cascada de efectos que puede dar lugar a la reacción alergica[10].

Para el seguimiento de la terapia, es importante distinguir entre reacción alergica mediada o no mediada por IgE[4,7]. La determinación de los niveles circulantes de IgE, junto con el resto de pruebas del paciente, ayudará a la determinación de este diagnóstico. El resto de pruebas podría incluir valorar las apropiadas determinaciones de IgE especificas de los alergenos, que por la historia clínica podrían ser responsables del proceso alergico. La determinación del nivel de IgE total circulante es un importante valor predictivo para la detección precoz de alergia en niños, y predecir futuras reacciones atópicas[4,6,7].

Los niveles de IgE muestran normalmente bajos incrementos durante la infancia, elevandose en la segunda decada de la vida[1,8]. En general, los niveles de IgE se van incrementando con el numero de reacciones alergicas que la persona ha tenido y con la concentración del alergeno al que ha sido expuesto[5,7].

Elevaciones importantes de IgE total no solo pueden ser encontradas en pacientes sensibilizados por alergenos, tambien puede darse en casos de mieloma IgE, aspergilosis pulmonar y periodos activos de ciertas infecciones por parasitos[4,5,7,9].

Principio del análisis

IMMULITE 2000 IgE Total es un ensayo inmunométrico quimioluminiscente en fase sólida.

Ciclos de incubación: 1 × 30 minutos
Tiempo hasta el primer resultado: 35 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 centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El IgE Total IMMULITE 2000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos.

Volumen Requerido: 5 µl de suero

Conservación: 3 días a 2–8°C[13,15], o 6 meses a –20°C[15].

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Reactivos: Mantener a 2–8°C. Desechar de acuerdo con las normas aplicables.

Seguir las precauciones universales y manipular 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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las canerias de cobre y plomo.

Substrato quimioluminiscente: Evitar la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

Agua: Usar agua destilada o desionizada.

Materiales Suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

Cartucho de bolas de IgE Total (L2IE12)
Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anti-IgE monoclonal de raton. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KIE2: 1 cartucho **L2KIE6:** 3 cartuchos

Vial de reactivo de IgE Total (L2IEA2)
Con códigos de barras. 11,5 ml de fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con anti-IgE policlonal de cabra en buffer, con conservante. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KIE2: 1 vial **L2KIE6:** 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 IgE Total (LIEL, LIEH)
Dos viales (bajo y alto), 2,5 ml cada uno, de IgE en una matriz de suero/buffer no humano, con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KIE2: 1 juego **L2KIE6:** 2 juegos

Antes de hacer un ajuste, colocar las etiquetas a las alícuotas apropiadas (suministradas con el kit) sobre tubos de ensayo, de forma tal que los códigos de barras puedan ser leídos por el lector.

Componentes del kit que se suministran por separado

Multidiluyente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Para diluciones en el instrumento de muestras. Un vial de un concentrado (listo para su uso) de una matriz proteica no humana en solución tampón, con conservantes. Conservación: 30 días (después de su apetura) a 2–8°C o 6 meses (alicuotado) a –20°C. Desechar de acuerdo con las leyes aplicables.
L2M2Z: 25 ml **L2M2Z4:** 55 ml

Se suministran etiquetas con códigos de barras para usarse con este diluyente. Antes de uso, colocar la etiqueta con el código de barras en un tubo de ensayo de 16 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2M2Z: 3 etiquetas
L2M2Z4: 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 × 100 mm)
L2ZC: 250 Casquillos Del Tubo Del Diluyente De la

IECM: Dos niveles de modulos controles de suero humano con IgE

También necesarios
Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles

Ensayo

Nota: para obtener un funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:
2 semanas

Muestras de Control de Calidad: Utilizar controles o pooles de sueros con al menos dos niveles diferentes de IgE Total (bajo y alto).

Valores Esperados

Basado en su relación con el IMMULITE IgE Total (ver Método de Comparación), se puede esperar que el ensayo tenga esencialmente los mismos rangos de referencia.

Edad (años)	Mediana (IU/ml)	95%til (IU/ml)
0–1	6,6	29
1–2	10,1	49
2–3	12,9	45
3–9	14,4	52
Adulto	20,4	87

Estos límites han de considerarse sólo como una guía. Cada Laboratorio deberá establecer sus propios rangos de referencia.

Limitaciones

Los niveles en suero de IgE total para la mayoría de los individuos con la enfermedad mediada por IgE se mostraran elevados respecto a los rangos de referencia para la población sana. A pesar de ello, no todos los pacientes alergicos, muestran niveles altos de IgE total en suero[11].

Esto es debido, a que no todas las reacciones atopicas son mediadas por IgE, los resultados de la IgE total dentro de los rangos de referencia, deberían ser siempre interpretados junto a otros resultados clínicos.

Los tests para IgE alergeno especifica podrían clarificar los resultados elevados para la IgE total.

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis *in vitro*. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasione un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia, no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

Características Analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo ver las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en IU/ml. (A 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:
IU/ml × 2,4 → ng/ml
IU/ml × 1 → kIU/l

Intervalo de calibración: Hasta 2000 IU/ml (WHO 2nd IRP 75/502)

Sensibilidad: 1,0 IU/ml

Efecto de gancho a altas dosis: Ninguno hasta 13 000 IU/ml

Precisión: Las muestras fueron analizadas por duplicado durante 20 días, en dos tandas de trabajo por día, para un total de 40 tandas y 80 replicados. (Ver la tabla de “Precision”.)

Linealidad: Las muestras fueron analizadas en varias diluciones. Los resultados muestran que el kit de IgE total IMMULITE 2000 mantiene una buena linearidad en todo su rango de calibración; pero debido a la heterogenicidad de la IgE circulante, con diferentes afinidades, puede dar lugar a una pérdida del paralelismo en las diluciones de algunos pacientes. (Ver la tabla de “Linearity” para resultados representativos.)

Recuperación: Se analizaron muestras sobrecargadas 1 en 19 con tres soluciones (1750, 3500 y 7000 IU/ml). (Ver la tabla de “Recovery” para resultados representativos.)

Especificidad: El ensayo es altamente específico para IgE humana y no muestra reacción cruzada frente a otras clases de inmunoglogulinas.

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina, en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Hemolisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 384 mg/dl,no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Lipemia: La presencia de triglicéridos en concentraciones hasta 5000 mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Comparación del Método: El ensayo fue comparado con el IMMULITE IgE Total en 175 muestras de pacientes. (Rango de Concentración: aproximadamente 2 a 1600 IU/ml. Ver el gráfico.)
Por regresión linear:

(IML 2000) = 0,96 (IML) + 10,0 IU/ml
r = 0,988

Medias:
225 IU/ml (IMMULITE 2000)
223 IU/ml (IMMULITE)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485:2003.

Français

IMMULITE 2000 IgE totales

Domaine d'utilisation : Dosage quantitatif des immunoglobulines E (IgE) totales dans le sérum. Ce test est réservé à un usage diagnostic *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000.

Référence catalogue :
L2KIE2 (200 tests) **L2KIE6** (600 tests)

Code produit : **TIE**
Code couleur : **violet**

Introduction

Les méthodes modernes du diagnostic de l'allergie sont basées sur la découverte du rôle de médiation, joué par les IgE, entre l'allergène et les cellules spécialisées.[4,5,7,9,10] Les IgE, molécules de poids moléculaire d'environ 200 000 Daltons, se fixent à la surface des mastocytes et des basophiles.[2,3] Lorsque deux IgE membranaires sont pontées par un allergène, alors les cellules relarguent de l'histamine et d'autres composés vasoactifs provoquant l'apparition des symptômes de la réaction allergique.[10]

Lors d'un traitement, il est important de différencier une allergie médiée par des IgE d'autres réactions non dues à des IgE.[4,7] La mesure du taux circulant d'IgE sera une aide pour faire ce diagnostic différentiel. Des informations supplémentaires peuvent être apportées par les dosages d'IgE spécifiques. Le dosage du taux circulant d'IgE totales permet aussi une détection précoce des allergies de l'enfant et aussi une prédiction des manifestations atopiques futures.[4,6,7]

Au cours de l'enfance, le taux d'IgE augmente lentement, atteignant un taux d'adulte dans la seconde décade de la vie (entre 10 et 20 ans).[1,8] En général, le taux d'IgE totales augmente avec le nombre d'allergies et la quantité d'allergènes à laquelle l'individu est exposé.[5,7]

Des élévations significatives peuvent être observées non seulement chez des sujets sensibilisés, mais aussi chez des patients atteints d'un myélome, d'une aspergillose pulmonaire ou pendant le stade actif d'une infection parasitaire.[4,5,7,9]

Principe du test

IMMULITE 2000 IgE Totales est un dosage chimiluminescent immunométrique, en phase solide.

Cycles d'incubation : 1 × 30 minutes
Temps de rendu du premier résultat : 35 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 dûs 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 IgE Totales IMMULITE 2000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles.

Volume nécessaire : 5 µl de sérum

Conservation : 3 jours à 2–8°C[13,15] ou 6 mois à –20°C.[15]

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 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 IgE totales (L2IE12)
Avec code-barres. 200 billes revêtues d'un anticorps monoclonal murin anti-IgE. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KIE2 : 1 cartouche
L2KIE6 : 3 cartouches

Cartouche-Réactif IgE totales (L2IEA2)
Avec code-barres. 11,5 ml de phosphatase alcaline (intestins de veau) conjuguée à un anticorps polyclonal de chèvre anti-IgE dans un tampon, avec conservateur. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KIE2 : 1 cartouche
L2KIE6 : 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 IgE totales (LIEL, LIEH)
2 flacons d'ajusteurs (« haut » et « bas ») de 2,5 ml chacun, contenant des IgE dans une matrice de sérum non-humain / tampon, avec conservateur. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KIE2 : 1 jeu **L2KIE6 :** 2 jeux

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

Composants du coffret fournis séparément

Multi-Diluant 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Pour la dilution à bord des échantillons. Un flacon contenant une matrice concentrée de tampon / protéines non-humaines avec conservateur (prêt à l'emploi). Conservation: 30 jours (après ouverture) à 2–8°C ou 6 mois (aliquoté) à –20°C. Éliminer les déchets conformément aux lois en vigueur.
L2M2Z : 25 ml **L2M2Z4 :** 55 ml

Les étiquettes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16X100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2M2Z : 3 étiquettes
L2M2Z4 : 5 étiquettes

L2SUBM : Substrat chimiluminescent
L2PWSM : Solution de lavage
L2KPM : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement
LRXT : Godets réactionnels (jetables)
L2ZT : 250 Tubes À essai De Diluant échantillon (16 × 100 mm)
L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

IECM : Contrôle à deux niveaux à base de sérum humain contenant des IgE

Egalement requis
Eau distillée ou désionisée ; tubes en verre ; contrôles

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000.

Voir le Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000 pour la préparation, le démarrage du système, la dilution, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé : 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) d'IgE.

Valeurs attendues

Compte tenu de la corrélation avec le test IMMULITE IgE totales (voir Méthode de Comparaison), on peut attendre de ce test qu'il ait, pour l'essentiel, les mêmes valeurs de référence pour les patients non atopiques :

Age (ans)	Médiane (UI/ml)	95%ile (UI/ml)
0–1	6,6	29
1–2	10,1	49
2–3	12,9	45
3–9	14,4	52
Adulte	20,4	87

Ces valeurs sont fournies *à titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

Limites

Pour la majorité des patients atteints d'une allergie à IgE médiées, la concentration sérique d'IgE totales est élevée par rapport aux valeurs de référence des individus sains. Cependant, des taux élevés d'IgE totales sériques ne sont pas recontrés chez tous les patients allergiques.[11]

Sachant que les manifestations allergiques ne font pas toutes intervenir les IgE dans des proportions massives, un taux normal d'IgE doit toujours être interprété en accord avec d'autres observations, notamment cliniques.

Un taux élevé d'IgE totales nécessite un dosage plus précis d'IgE spécifiques.

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 rares sérums et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en UI/ml. (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.)

Facteur de conversion :
UI/ml × 2,4 → ng/ml
UI/ml × 1 → kUI/l

Domaine de mesure : jusqu'à 2000 UI/ml (standardisé par rapport à 2nd IRP 75/502 de l'OMS)

Sensibilité analytique : 1,0 UI/ml

Effet-crochet : aucun effet-crochet jusqu'à 13 000 UI/ml

Précision : les valeurs ont été établies à partir de doublets dosés dans deux séries différentes chaque jour pendant 20 jours soit au total 40 séries et 80 doublets. (Voir le tableau « Precision ».)

Test de dilution : des échantillons ont été dosés à différentes concentrations. Les résultats montre que le test

IMMULITE 2000 IgE totales maintient une bonne linéarité dans l'ensemble du domaine de mesure. Néanmoins, du fait de l'hétérogénéité des IgE circulantes et des éventuelles différences d'affinité vis à vis de celle-ci, il peut y avoir une perte de linéarité à la dilution chez certains patients. (Voir le tableau « Linearity » pour des données représentatives.)

Test de récupération : les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions d'IgE Totales (1750, 3500 et 7000 UI/mL). (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : Le test est hautement spécifique des IgE humaines et ne montre aucune réaction croisée avec les autres classes d'immunoglobulines humaines.

Bilirubine : La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage 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 384 mg/dl.

Lipémie : La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 5000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

Comparaison de méthodes : le test a été comparé au test IMMULITE IgE totales sur 175 échantillons de patients. (Dont les concentrations allaient d'environ 2 à 1600 UI/ml. Voir graphique.) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 0,96 (IML) + 10,0 UI/ml
r = 0,988

Moyennes :
225 UI/ml (IMMULITE 2000)
223 UI/ml (IMMULITE)

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

Le Système Qualité de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. est certifié ISO 13485:2003.

Italiano

IMMULITE 2000 IgE Totali

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa di immunoglobuline di tipo IgE (IgE) nel siero.

Codice: **L2KIE2** (200 test)
L2KIE6 (600 test)

Codice del Test: **TIE** Colore: **Violetto**

Riassunto e Spiegazione del Test

I moderni metodi di laboratorio per i test allergologici sono basati sulla scoperta, relativamente recente, che molte allergie sono mediate dalle immunoglobuline della classe IgE che agiscono come punti di contatto tra l'allergene e le cellule specializzate.[4,5,7,9,10] Le molecole IgE con una massa molecolare di circa 200 000 dalton si legano sulla superficie dei mastociti e dei granulociti basofili.[2,3] Il successivo legame degli allergeni alle IgE legate alle cellule provoca da parte di queste ultime un rilascio di istamine e di altre sostanze vasoattive dando inizio agli eventi che conosciamo come reazione allergica.[10]

Nella decisione della terapia da seguire, è importante distinguere tra reazioni IgE mediate e non IgE mediate[4,7] La misurazione dei livelli di IgE totali in circolo, unitamente ad altre informazioni diagnostiche di supporto, può essere d'aiuto nella formulazione di questa diagnosi. Le informazioni di supporto devono comprendere test idonei per IgE allergene-specifiche. Le misurazioni dei livelli di IgE in circolo possono essere molto utili nella determinazione precoce di allergie nei bambini e quale strumento predittivo di future manifestazioni atopiche.[4,6,7]

I livelli di IgE mostrano normalmente un lento aumento durante la fanciullezza e raggiungono livelli massimi negli adulti.[1,8] In generale, il livello di IgE totale aumenta con il numero di allergie che una persona ha e con l'entità dell'esposizione agli allergeni rilevanti.[5,7]

Si possono riscontrare livelli elevati in maniera significativa solo in individui sensibilizzati, ma anche in casi di myeloma IgE, aspergillosi polmonare e durante la fase attiva di infezioni parassitarie.[4,5,7,9]

Principio del Dosaggio

IMMULITE 2000 IgE Totali è un dosaggio immunometrico in chemiluminescenza in fase solida.

Cicli d'incubazione: 1 × 30 minuti
Tempo al Primo Risultato: 35 minuti

Raccolta del Campione

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

I campioni emolizzati posson 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 IgE Totali non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette.

Volume richiesto: 5 µL di siero

Conservazione: 3 giorni a 2–8°C[13,15] o 6 mesi a –20°C.[15]

Avvertenze e Precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

Reagenti: Conservare i reagenti a 2–8°C. Eliminare in conformità alle leggi pertinenti.

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati dal sangue umano sono stati testati con esito negativo per la sifilide, gli anticorpi anti-HIV 1 e 2, l'antigene di superficie dell'Epatite B e gli anticorpi dell'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 unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

Contenitore di Sferette IgE Totali (L2IE12)
Con codice a barre. 200 biglie coattate con anticorpo monoclonale di topo anti-IgE. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KIE2: 1 confezione
L2KIE6: 3 confezioni

Porta Reagente IgE Totali (L2IEA2)
Con codice a barre. 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con anticorpo policlonale di capra anti-IgE in tampone, con conservanti. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KIE2: 1 Porta Reagente
L2KIE6: 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.

Calibratori IgE Totali (LIEL, LIEH)
Due flaconi (Basso ed Alto), 2,5 mL ciascuno, ciascuno con IgE in una matrice non umana di siero/tampone, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni

dopo l'apertura, e per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KIE2: 1 set **L2KIE6:** 2 set

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste sulle aliquote (fornite col kit) sulle provette cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore.

I componenti dei kit sono forniti separatamente

Multidiluente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Per la diluzione sul luogo dei campioni dei pazienti. Un flacone concentrato pronto all'uso, una matrice proteina non umana/tampone con conservanti. Conservazione: 30 giorni (dopo l'apertura) a 2–8°C oppure 6 mesi (in aliquote) a –20°C. Eliminare secondo quanto stabilito dalle relative leggi.
L2M2Z: 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

Vengono Fornite Le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm cosicchè i codici a barre possano essere letti dal lettore interno
L2M2Z: 3 etichette **L2M2Z4:** 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 × 100 mm) per Diluente del Campione
L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluente del Campione

IECM: modulo di controllo a base di siero umano a due livelli contenente IgE

Materiali richiesti
Acqua distillata o deionizzata; provette di vetro; controlli

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 2 settimane

Controllo di Qualità: Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (alto e basso) di IgE Totali.

Valori Attesi

Data l'affinità con il Kit IgE Totali IMMULITE (vedi "Confronto di Metodi") ci si attende che il dosaggio abbia gli stessi range di riferimento.

Età (anni)	Valore Mediano (IU/mL)	95°ile (IU/mL)
0–1	6,6	29
1–2	10,1	49
2–3	12,9	45
3–9	14,4	52
Adulto	20,4	87

Detti valori dovrebbero essere considerati solo come *suggerimento*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

Limiti

I livelli di IgE Totali nel siero per la maggior parte degli individui con malattie IgE mediate possono presentarsi elevati se paragonati al range di riferimento rappresentato da pazienti adulti sani. Tuttavia, non tutti i pazienti allergici mostrano livelli elevati di IgE totali.[11]

Poiché non tutte le reazioni atopiche sono IgE mediate, un risultato delle IgE totali nel range di riferimento deve sempre essere interpretato alla luce di altre osservazioni cliniche.

I test per le IgE allergene specifiche possono chiarire un risultato elevato delle IgE totali.

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi *in vitro*. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34: 27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di

interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedi tavole e grafici per dati *rappresentativi*. I risultati sono indicati in IU/mL. (Laddove non diversamente specificato, tutti i dati sono stati generati su campioni di siero raccolti in provette senza gel separatore o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.)

Fattore di Conversione:
IU/mL × 2,4 → ng/mL
IU/mL × 1 → kIU/L

Range di Calibrazione: Fino a 2000 IU/mL (WHO 2nd IRP 75/502)

Sensibilità Analitica: 1,0 IU/mL

Effetto Gancio per Dosi Elevate: Nessuno fino a 13 000 IU/mL

Precisione: Sono stati dosati campioni in doppio in 20 giorni, due sedute al giorno, per un totale di 40 sedute ed 80 replicati. (Vedi la Tabella “Precision”.)

Linearità: Sono stati dosati campioni in varie forme diluite. I risultati mostrano che il kit IgE Totali IMMULITE 2000 mantiene una buona linearità lungo tutto il range di calibrazione; ma a causa dell'eterogeneità delle IgE in circolo con affinità diverse, ci può essere una perdita di parallelismo alle diluizioni in alcuni pazienti. (Vedi la Tabella "Linearity" per dati rappresentativi.)

Recupero: Sono stati dosati campioni 1:19 ai quali sono state aggiunte tre soluzioni (1750, 3500 e 7000 IU/mL). (Vedi la Tabella "Recovery" per dati rappresentativi.)

Specificità: Il dosaggio è estremamente specifico per le IgE umane e non presenta crossreattività verso altre classi di immunoglobuline umane.

Bilirubina: La presenza di bilirubina in concentrazioni fino a 200 mg/L non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Emolisi: La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 384 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Lipemia: La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 5000 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Confronto di Metodi: Il dosaggio è stato comparato al dosaggio Kit IgE Totali IMMULITE su 175 campioni di pazienti. (Range di concentrazione: da 2 fino a 1600 IU/mL. Vedi grafico.) Con regressione lineare:

(IML 2000) = 0,96 (IML) + 10,0 IU/mL
r = 0,988

Valore medio:
225 IU/mL (IMMULITE 2000)
223 IU/mL (IMMULITE)

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore Nazionale.

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485:2003.

Português

IMMULITE 2000 IgE Total

Utilização: Para o diagnóstico *in vitro*. Doseamento quantitativo da imunoglobulina Tipo E (IgE) no soro, em conjunto com os Analisadores dos Sistemas IMMULITE 2000.

Números de catálogo:
L2KIE2 (200 testes) **L2KIE6** (600 testes)

Código do teste: **TIE** Cor: **Violeta**

Sumário e explicação do teste

Os métodos laboratoriais para testar alergias são baseados na recente descoberta de que muitas alergias são mediadas pelas imunoglobulinas de classe IgE, actuando como pontos de ligação entre os alergéneos e as células especializadas[4,5,7,9,10]. As moléculas de

IgE, cujo peso molecular é de aprox. 200 000, ligam-se à superfície dos mastócitos e dos granulócitos basofilicos[2,3]. A subsequente ligação dos alergéneos às IgE complexadas com as células, induz a libertação por estas de histaminas e outras substâncias vasoactivas iniciando desse modo os quadros conhecidos por reacção alérgica[10].

Para decidir o seguimento da terapia, é importante distinguir as reacções mediadas pela IgE das não mediadas[4,7]. O doseamento dos níveis de IgE circulante, em conjunto com outras informações de diagnóstico, pode auxiliar na elaboração do diagnóstico. A informação suporte de diagnóstico deve incluir testes apropriados para a IgE específica. O doseamento dos níveis de IgE Total na circulação sanguínea, também poderá ser mais importante na detecção precoce de alergias nas crianças, e como meio de evitar futuras manifestações atópicas[4,6,7].

Os níveis de IgE apresentam ligeiros aumentos durante a infância, atingindo valores para adulto na 2ª década de vida[1,8]. Geralmente, o nível de IgE total aumenta com o número de alergias que a pessoa tem e com o grau de exposição aos alergéneos relevantes[5,7].

Elevações significativas poderão ser observadas não só em indivíduos sensíveis, mas também em casos de mieloma de IgE, aspergilose pulmonar e durante a fase activa de infestações parasitárias[4,5,7,9].

Princípio do procedimento

A IgE Total IMMULITE 2000 é um ensaio imunométrico em fase sólida quimioluminescente.

Ciclos de incubação: 1 × 30 minutos
Tempo para o Primeiro Resultado: 35 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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 IgE Total não foram ainda testados com todas as possiveis variações originadas pelos tipos de tubos.

Volume de amostra: 5 µL de soro

Estabilidade: 3 dias a 2–8°C[13,15], ou 6 meses a –20°C[15].

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as normas aplicadas.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas obtidas de soro humano foram testadas, dando 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).

Água: Utilize água destilada ou desionizada.

Materiais fornecidos

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. As etiquetas no interior das caixas são necessárias para o ensaio.

Embalagem de pérolas de IgE Total (L2IE12)
Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com anticorpo monoclonal de rato anti-IgE. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KIE2: 1 embalagem
L2KIE6: 3 embalagens

Embalagem de Reagente de IgE Total (L2IEA2)
Com código de barras. Contém 11,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugado com anticorpo policlonal de cabra anti-IgE em tampão, com conservante. Estável até à data de validade a 2–8°C.
L2KIE2: 1 embalagem
L2KIE6: 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 IgE Total (LIEL, LIEH)
Contém dois frascos (nível alto e baixo), com 2,5 mL de IgE numa matriz de soro não-humano tamponizada, com conservante. Estável, após abertura, durante 30 dias a 2–8°C. Para períodos mais longos, congelar em alíquotas. Estável a –20°C durante 6 meses.
L2KIE2: 1 conjunto **L2KIE6:** 2 conjuntos

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas da alíquota apropriadas (fornecidas com o "kit") em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Multidiluente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)
Para diluições no aparelho de amostras. Um frasco, de concentrado (pronto a usar) constituido por uma matriz baseada em protéica tamponizada não humana, com conservante. Estabilidade: 30 dias (após abertura) a 2–8°C ou 6 meses (em alíquotas) a –20°C. Elimine de acordo com as normas aplicadas.
L2M2Z: 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2M2Z: 3 etiquetas **L2M2Z4:** 5 etiquetas

L2SUBM: Substrato quimioluminescente
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

IECM: Módulo de controlo com 2 níveis baseado em soro humano contendo IgE

Também necessário
Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos

Procedimento de doseamento

Ter em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000.

Consultar o Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000 relativamente aos procedimentos de preparação, diluição, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável: 2 semanas

Amostras de controlo de qualidade: utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de IgE Total.

Valores de Referência

Baseado na sua relação com o IgE Total IMMULITE (ver compara ção de métodos), pode esperar-se que o doseamento tenha valores de referência indênticos.

Idade (anos)	Mediana (IU/mL)	Percentil 95% (IU/mL)
0–1	6,6	29
1–2	10,1	49
2–3	12,9	45
3–9	14,4	52
Adulto	20,4	87

Estes valores devem ser considerados apenas como directrizes. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores.

Limitações

Os níveis serológicos da IgE, para a maioria dos indivíduos com doenças mediadas por IgE, espera-se que sejam superiores aos valores de referência para adultos saudáveis. No entanto, nem todos os pacientes alérgicos exibem valores de IgE total elevados[11].

Uma vez que nem todas as reacções atópicas são mediadas por IgE, o resultado da IgE total deve ser interpretado relativamente aos valores de referência em função de outras observações clínicas.

Testes das IgE's específicas para alergéneos devem esclarecer o resultado elevado da IgE total.

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 apresentados em IU/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:
IU/mL × 2,4 → ng/mL
IU/mL × 1 → kIU/L

Calibração: Até 2000 IU/mL (WHO 2nd IRP 75/502)

Sensibilidade Analítica: 1,0 IU/mL

Efeito Hook de Alta Dose: Nenhum até 13 000 IU/mL

Precisão: As amostras foram doseadas em duplicado durante 20 dias, 2 ensaios por dia, perfazendo um total de 40 ensaios e 80 réplicas. (Ver a tabela de "Precision".)

Linearidade: As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. Os resultados mostram que o IMMULITE 2000 IgE Total mantém uma boa linearidade na gama de calibração; mas devido à heterogenidade das IgE circulantes com diferentes afinidades, pode haver perda de paralelismo em algumas diluições de amostras. (Ver a tabela de "Linearity" para dados representativos.)

Recuperação: Amostras adicionadas, na relação de 1 para 19, com três soluções de IgE Total (1750, 3500 e 7000 IU/mL) foram ensaiadas. (Ver tabela "Recovery" para dados representativos.)

Especificidade: O doseamento é específico para a IgE humana e não apresenta reactividade cruzada com outras classes da imunoglobulina humana.

Bilirrubina: A presença de bilirrubina em concentrações até 200 mg/L não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Hemolise: A presença de hemoglobina em concentrações até 384 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipémia: A presença de triglicéridos em concentrações até 5000 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Comparação de métodos: O doseamento foi comparado com o IgE Total IMMULITE em 175 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 2 a 1600 IU/mL. Ver gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 0,96 (IML) + 10,0 IU/mL
r = 0,988

Médias:
225 IU/mL (IMMULITE 2000)
223 IU/mL (IMMULITE)

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485:2003.

IMMULITE is a trademark of
Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2012 Siemens Healthcare Diagnostics.
All rights reserved.

Origin: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Llanberis, Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

CE

2012-12-17

PIL2KIE – 22

Changes in this Edition:

cc#EU21882: Added Time to First Result to the Principle of the Procedure section.

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol Definition

IVD

En: *In vitro* diagnostic medical device
De: Medizinisches Gerät zur *In-vitro* Diagnose
Es: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
Fr: Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
It: Dispositivo medico per diagnostica *in vitro*
Pt: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

REF

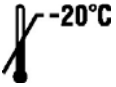
En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo

En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante

EC REP

En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia

Symbol	Definition
CE	**En:** CE Mark **De:** CE-Kennzeichen **Es:** Marca CE **Fr:** Marque CE **It:** Marchio CE **Pt:** Marca CE
CE 0088	**En:** CE Mark with identification number of notified body **De:** CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle **Es:** Marca CE con número de identificación del organismo notificado **Fr:** Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié **It:** Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato **Pt:** Marca CE, com número de identificação do organismo notificado
	**En:** Consult instructions for use **De:** Bedienungshinweise beachten **Es:** Consulte las instrucciones de uso **Fr:** Consulter le mode d'emploi **It:** Consultare le istruzioni per l'uso **Pt:** Consulte as instruções de utilização
	**En:** Caution! Potential Biohazard **De:** Vorsicht! Biologisches Risikomaterial **Es:** ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial **Fr:** Avertissement ! Risque biologique potentiel **It:** Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico **Pt:** Atenção! Potenciais Riscos Biológicos
	**En:** Temperature limitation (2–8°C) **De:** Temperaturgrenze (2–8°C) **Es:** Limitación de temperatura (2–8°C) **Fr:** Limites de température (2–8°C) **It:** Limiti di temperatura (2–8°C) **Pt:** Limites de temperatura (2–8°C)

Symbol	Definition
	**En:** Upper limit of temperature (≤ -20°C) **De:** Obere Temperaturgrenze (≤ -20°C) **Es:** Límite superior de temperatura (≤ -20°C) **Fr:** Limite supérieure de température (≤ -20°C) **It:** Limite superiore di temperatura (≤ -20°C) **Pt:** Limite máximo de temperatura (≤ -20°C)
	**En:** Lower limit of temperature (≥ 2°C) **De:** Mindesttemperatur (≥ 2°C) **Es:** Límite inferior de temperatura (≥ 2°C) **Fr:** Limite inférieure de température (≥ 2°C) **It:** Limite inferiore di temperatura (≥ 2°C) **Pt:** Limite mínimo de temperatura (≥ 2°C)
	**En:** Do not freeze (> 0°C) **De:** Nicht einfrieren (> 0°C) **Es:** No congelar (> 0°C) **Fr:** Ne pas congeler (> 0°C) **It:** Non congelare (> 0°C) **Pt:** Não congelar (> 0°C)
	**En:** Do not reuse **De:** Nicht zur Wiederverwendung **Es:** No reutilizar **Fr:** Ne pas réutiliser **It:** Non riutilizzare **Pt:** Não reutilizar
	**En:** Keep away from sunlight **De:** Vor Sonneneinstrahlung schützen **Es:** Proteger de la luz solar **Fr:** Maintenir hors de portée de la lumière du soleil **It:** Non esporre alla luce del sole **Pt:** Manter afastado da luz solar
LOT	**En:** Batch code **De:** Chargenbezeichnung **Es:** Número de lote **Fr:** Numéro de code du lot **It:** Codice lotto **Pt:** Código de lote

Symbol	Definition
	**En:** Contains sufficient for (n) tests **De:** Es reicht für (n) Tests **Es:** Contiene suficiente para (n) pruebas **Fr:** Contient du matériel suffisant pour (n) tests **It:** Contiene materiale sufficiente per (n) test **Pt:** Contém o suficiente para (n) testes
2008-01	**En:** Date format (year-month) **De:** Datumsformat (Jahr-Monat) **Es:** Formato de fecha (año-mes) **Fr:** Format de la date (année-mois) **It:** Formato data (anno-mese) **Pt:** Formato de data (ano-mês)
	**En:** Use by **De:** Verwendbar bis **Es:** Fecha de caducidad **Fr:** A utiliser avant **It:** Usare entro **Pt:** Usar até
	**En:** Harmful **De:** Gesundheitsschädlich **Es:** Nocivo **Fr:** Nocif **It:** Nocivo **Pt:** Nocivo
	**En:** Corrosive **De:** Ätzend **Es:** Corrosivo **Fr:** Corrosif **It:** Corrosivo **Pt:** Corrosivo
	**En:** Toxic **De:** Giftig **Es:** Tóxico **Fr:** Toxique **It:** Tossico **Pt:** Tóxico
	**En:** Dangerous for the environment **De:** Umweltgefährlich **Es:** Peligroso para el medio ambiente **Fr:** Dangereux pour l'environnement **It:** Pericoloso per l'ambiente **Pt:** Perigoso para o ambiente

Symbol	Definition
BEAD PACK	**En:** Bead Pack **De:** Kugel-Container **Es:** Cartucho de bolas **Fr:** Cartouche de billes **It:** Contenitore di biglie **Pt:** Embalagem de esferas
TEST UNIT	**En:** Test Unit **De:** Testeinheit **Es:** Unidades de análisis **Fr:** Unité de test **It:** Test Unit **Pt:** Unidades de Teste
REAG WEDGE **REAG WEDGE A** **REAG WEDGE B** **REAG WEDGE D**	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste

Symbol	Definition
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL CONTROL 1 CONTROL 2 CONTROL 3	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo

Symbol	Definition
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

Total T3

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 Total T3

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the quantitative measurement of total circulating triiodothyronin (T3) in serum. Measurements of T3 are used in the diagnosis and treatment of thyroid disease.

Catalog Numbers:
L2KT32 (200 tests) **L2KT36** (600 tests)

Test Code: **T3** Color: **Violet**

Summary and Explanation

Under normal physiological conditions, T3 represents approximately 5 percent of the thyroid hormones in serum. Although present in lower concentration, T3 has a greater intrinsic metabolic activity, faster turnover and larger volume of distribution than circulating T4.[1] Reports that thyrotoxicosis may be caused by abnormally high concentrations of T3 — rather than T4 — have reinforced the importance of T3 measurements.[2-5] In addition, T3 determination is an important tool for monitoring hypothyroid patients receiving sodium liothyronine therapy. Unlike "T3 Uptake" tests, which estimate the saturation of thyroid hormone binding proteins, total T3 analysis actually measures circulating levels of triiodothyronine. Most reports indicate that T3 levels distinguish clearly between euthyroid and hyperthyroid subjects, but provide a less clear-cut separation between hypothyroid and euthyroid subjects.[1]

Numerous conditions unrelated to thyroid disease may cause abnormal T3 values.[1,6-9] Consequently, total T3 values should not be used on their own in establishing the thyroid status of an individual. The levels of serum T4, TBG (thyroid binding globulin), TSH (thyroid stimulating hormone) and other clinical findings must be considered as well.

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 Total T3 is a solid-phase, competitive chemiluminescent enzyme immunoassay.

Incubation Cycles: 1 × 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.

EDTA plasma is not recommended for use.

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 Total T3 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: 25 µL serum

Storage: 7 days at 2–8°C, or
2 months at –20°C.

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.



CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD
Contains human source material. Each donation of human blood or blood component was tested by FDA-approved methods for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) as well as for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis C virus (HCV). The test results were negative (not repeatedly reactive). No test offers complete assurance that these or other infectious agents are absent; this material should be handled using good laboratory practices and universal precautions.[8-10]

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.

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.

Total T3 Bead Pack (L2T312)
With barcode. 200 beads, coated with monoclonal murine anti-T3. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KT32: 1 pack **L2KT36:** 3 packs

Total T3 Reagent Wedge (L2T3A2)
With barcode. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to T3, with preservative. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KT32: 1 wedge **L2KT36:** 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.

Total T3 Adjustors (LT3L, LT3H)
Two vials (Low and High), 2.0 mL each, of T3 in processed human serum, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

L2KT32: 1 set **L2KT36:** 2 sets

Before making an adjustment, place the appropriate Aliquot Labels (supplied with the kit) on test tubes so that the barcodes can be read by the on-board reader.

Kit Components Supplied Separately

Multi-Diluent 1
For the on-board dilution of high samples. One vial of concentrated (ready-to-use) processed, normal human serum, containing undetectable to low levels of total T3 with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2M1Z: 25 mL

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.
L2M1Z: 3 labels

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate
L2PWSM: Probe Wash
L2KPM: Probe Cleaning Kit
LRXT: Reaction Tubes (disposable)
L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

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 Systems Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual for preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval: 2 weeks

Quality Control Samples: Follow government regulations or accreditation requirements for quality control frequency.

Use controls or serum pools with at least two levels (low and high) of T3.

Siemens Healthcare Diagnostics recommends the use of commercially available quality control materials with at least 2 levels (low and high). A satisfactory level of performance is achieved when the analyte values obtained are within the Acceptable Control Range for the system, or within an established range determined by an appropriate internal laboratory quality control scheme.

Expected Values

Adult: A total of 169 serum samples from apparently healthy subjects were processed by the IMMULITE 2000 Total T3 assay. Non-parametric analysis yielded a median value of 119 ng/dL and a central 95% range of

84–172 ng/dL (1.3–2.6 nmol/L)

Reference ranges were generated using serum samples collected in Becton Dickinson plastic vacutainer tubes without gel barriers.

Pediatric: Reference intervals for the pediatric population (children and adolescents) were established for the IMMULITE Total T3 assay in accordance with CLSI guideline EP28-A3C.[11]

For analysis of data, the population was divided into three age subgroups:

- Infants: subjects aged 1–23 months
- Children: subjects aged 2–12 years
- Adolescents: subjects aged 13–20 years

A non-parametric approach was used to establish the reference intervals for children and adolescents where the 2.5 and 97.5 percentiles of the distribution of values were calculated. For the infant population, a robust measure of location and spread, as developed by Horn and Pesce, was used to estimate the 2.5 and the 97.5 percentile reference intervals, accommodating the smaller sample size.[11–13]

The reference intervals detailed by age group and number of samples are presented in the Reference Intervals table.

IMMULITE 2000 Total T3 Pediatric Reference Intervals

Age Group	*n*	Conventional ng/dL	SI nmol/L
Infants (1–23 Months)	90	116–241	1.8–3.7
Children (2–12 Years)	197	109–206	1.7–3.2
Adolescents (13–20 Years)	148	93–170	1.4–2.6

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

Limitations

Many physiological, pharmacological, pathological, and genetic factors affect the interpretation of total T3 results. (Refer to the Summary and Explanation section.)

More than 20% of patients with non-thyroidal disease who are critically ill have low serum total T3 levels.

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/dL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Conversion Factor:
ng/dL × 0.01536 → nmol/L

Calibration Range: 40 to 600 ng/dL (0.61 to 9.2 nmol/L)

The assay is traceable to an internal standard manufactured using qualified materials and measurement procedures.

Analytical Sensitivity: 19 ng/dL (0.29 nmol/L)

Precision: Samples were processed in duplicate over the course of 20 days, two runs per day, for a total of 40 runs and 80 replicates. (See "Precision" table.)

Linearity: Samples were assayed under various dilutions. (See "Linearity" table for representative data.)

Recovery: Samples spiked 1 to 19 with three T3 solutions (1660, 2980 and 3840 ng/dL), were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody is highly specific for T3. (See "Specificity" table.)

Bilirubin: Presence of bilirubin in concentrations up to 200 mg/L has no effect on results, within the precision of the assay.

Biotin: Specimens that contain biotin at a concentration of 1500 ng/mL demonstrate a less than or equal to 10% change in results. Biotin concentrations greater than this may lead to incorrect results for patient samples.

Hemolysis: Presence of packed red blood cells in concentrations up to 30 µL/mL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 5000 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 25 volunteers into plain, heparinized and Becton Dickinson SST® vacutainer tubes. Equal volumes of the matched samples were spiked with various concentrations of total T3, to obtain values throughout the calibration range of the assay, and then assayed by the IMMULITE 2000 Total T3 procedure.

(Heparin) = 1.06 (Serum) – 6.66 ng/dL
r = 0.993

(SST) = 1.06 (Plain Tubes) – 4.09 ng/dL
r = 0.994

Means:
186 ng/dL (Heparin)
183 ng/dL (SST)
179 ng/dL (Serum)

Method Comparison: The assay was compared to IMMULITE Total T3 on 340 samples. (Concentration range: approximately 70 to 540 ng/dL. See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 0.91 (IML) + 13.6 ng/dL
r = 0.987

Means:
135 ng/dL (IMMULITE 2000)
133 ng/dL (IMMULITE)

References

1) Hollander CS, Shenkman L. Radioimmunoassays for triiodothyronine and thyroxine. In: Rothfeld B, editor. Nuclear medicine *in vitro*. Philadelphia: Lippincott, 1974:136-49. 2) Ahmed M, Doe RP, Nuttall FQ. Triiodothyronine thyrotoxicosis following iodide ingestion: a case report. J Clin Endocrinol Metab 1974;38:574-6. 3) Hollander CS, Nihei N, Burday SZ, Mitsuma T, Shenkman L, Blum M. Clinical and laboratory observations in cases of triiodothyronine toxicosis confirmed by radioimmunoassay. Lancet 1972;i:609-11. 4) Mitsuma T, Owens R, Shenkman L, Reiter E, Hollander CS. T3 toxicosis in childhood: hyperthyroidism due to isolated hypersecretion of triiodothyronine. J Pediatr 1972;81:982-4. 5) Sterling K, Refetoff S, Selenkow HA. Thyrotoxicosis due to elevated serum triiodothyronine levels. JAMA 1970;213:571-5. Bates HM. Clin Lab Prod 1974;3:16. 6) Utiger RD. Serum triiodothyronine in man. Annu Rev Med 1974;25:289-302. Larson PR. Triiodothyronine: review of recent studies of its physiology and pathophysiology in man. Metabolism 1972;21:1073-92. 7) Oppenheimer JH. Role of plasma proteins in the binding, distribution and metabolism of the thyroid hormones. N Engl J Med 1968;278:1153-62. 8) Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne

pathogens in healthcare settings. MMWR, 1988;37:377–82, 387–8. 9) Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3. 10) Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030. 11) Clinical and Laboratory Standards Institute. *Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Third Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010. CLSI Guideline EP28-A3C. 12) Horn PS, Pesce AJ, Reference Intervals. A User's Guide, Washington, DC:AACC Press; 2005. 13) Reed AH, Henry RJ, Mason WB. Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. 1971; 17:275-284.

Technical Assistance

In the United States, contact Siemens Healthcare Diagnostics Technical Services department. Tel: 877.229.3711. Outside the United States, contact your National Distributor.

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

Precision (ng/dL)

		Within-Run[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	73	8.8	12%	11	15%
2	88	6.7	7.6%	7.4	8.6%
3	96	6.7	7.0%	9.8	10%
4	105	7.4	7.1%	12	11%
5	171	9.4	5.5%	12	7.0%
6	362	16	4.4%	19	5.3%

Linearity (ng/dL)

	Dilution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	8 in 8[5]	340	—	—
	4 in 8	187	170	110%
	2 in 8	86	85	101%
	1 in 8	41	43	95%
2	8 in 8	380	—	—
	4 in 8	166	190	87%
	2 in 8	84	95	88%
	1 in 8	40	48	83%
3	8 in 8	529	—	—
	4 in 8	277	265	105%
	2 in 8	131	132	99%
	1 in 8	75	66	114%

Recovery (ng/dL)

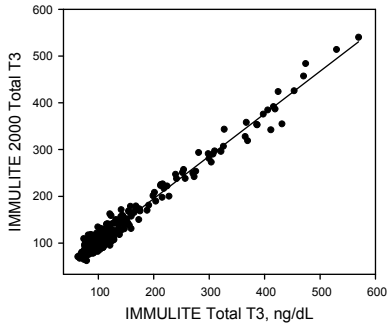
	Solution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	—	127	—	—
	A	213	204	104%
	B	274	270	102%
	C	325	313	104%
2	—	264	—	—
	A	335	334	100%
	B	395	400	99%
	C	456	443	103%

Specificity

Compound[1]	Amount Added[2] ng/dL	% Cross-reactivity[3]
Triido-L-thyronine (T3)	—	100%
Reverse T3	500,000	0.02%
L-Thyroxine (T4)	24,000	0.60%
D-Thyroxine	5000	1.3%
Triiodothyroacetic acid	10,000	0.7%
	1000	0.6%
Tetraiodothyroacetic acid	20,000	0.37%
Monoiodotyrosine	1,000,000	0.005%
Diiodo-L-tyrosine	1,000,000	ND
Methimazole	1,000,000	0.008%
5,5'-Diphenylhydantoin	1,000,000	0.004%
Phenylbutazone	1,000,000	ND
6-*n*-Propyl-2-thiouracil	1,000,000	ND

ND: Not detectable.[4]

Method Comparison



(IML 2000) = 0.91 (IML) + 13.6 ng/dL
r = 0.987

Deutsch. **Precision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]SD (Standardbereich), [5]CV (Variationskoeffizient). **Linearity**: [1]Verdünnung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Lösung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E. **Specificity**: [1]Verbindung, [2]zugesetzte Menge, [3]% Kreuzreaktivität, [4]NN: Nicht nachweisbar. **Method Comparison.** Total T3: Gesamt-T3.

Español. **Precision**: [1] Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV. **Linearity**: [1] Dilución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 en 8. **Recovery**: [1] Solución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Specificity**: [1]Compuesto, [2] Cantidad añadida, [3]% Reacción cruzada, [4]ND: no detectable. **Method**, [3]% Reacción cruzada, [4]ND: no detectable. **Method Comparison.** Total T3: T3 Total.

Français. **Precision:** [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]SD, [5]CV. **Linearity:** [1]Dilution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A, [5]8 dans 8. **Recovery:** [1]Solution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A. **Specificity:** [1]Composé, [2]ajouté, [3]Réaction croissée%, [4]ND: non détectable. **Method Comparison:** Total T3: T3 Totale.

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity**: [1]Diluizione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Soluzione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A. **Specificity**: [1]Composto, [2]quantità aggiunta, [3]Percentuale di Crossreattività, [4]ND: non determinabile. **Method Comparison.** Total T3: T3 Totale.

Português. **Precision**: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação. **Linearity**: [1]Diluição, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 em 8. **Recovery**: [1]Solução, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Specificity**: [1]Composto, [2]Quantidade adicionada, [3]Percentagem de reacção cruzada, [4]ND: não detectável. **Method Comparison.** Total T3: T3 Total.

Deutsch

Gesamt T3

Anwendung: *In-vitro*-Diagnostikum zur quantitativen Messung vom zirkulierenden Gesamttriiodothyronin (T3) im Serum unter Verwendung der IMMULITE® 2000 Analysesysteme. Messungen des T3 erfolgen zur Diagnose und Behandlung von Schilddrüsenerkrankungen.

Artikelnummern:
L2KT32 (200 tests) **L2KT36** (600 tests)

Testcode: **T3** Farbe: **violett**

Klinische Relevanz

Unter physiologischen Bedingungen repräsentiert das T3 ca. 5 % der Schilddrüsenhormone im Serum. Obwohl dies nur eine geringe Konzentration ist, besitzt T3 eine größere metabolische Aktivität, einen schnelleren Umsatz und ein größeres Verteilungsvolumen als zirkulierendes T4.[1] Kasuistiken, die zeigten, daß Thyreotoxikose eher durch pathologisch erhöhte T3- Konzentrationen als durch T4- Erhöhungen verursacht wurden, haben die Notwendigkeit von T3-Bestimmungen erneut unterstrichen.[2–5] Die T3-Bestimmung ist außerdem ein unerläßlicher Parameter für die Therapiekontrolle von Patienten unter T3-Therapie. Im Gegensatz zum T3- Uptake, der die Sättigung der Bindungsproteine mit Schilddrüsenhormonen bestimmt, mißt der Gesamt T3-Test den Spiegel des zirkulierenden Trijodthyronins. Die meisten Publikationen zeigen, daß anhand der T3-Spiegel deutlich zwischen euthyreoten und hyperthyreoten Patienten unterschieden werden kann. Die Differenzierung euthyreoter von hypothyreoten Patienten hingegen ist weniger ausgeprägt.[1]

Neben Schilddrüsenerkrankungen können auch andere Faktoren zu veränderten T3-Werten führen.[1,6-9] Deshalb darf der Schilddrüsenstatus von Patienten auch nicht allein auf der Grundlage des T3 als Einzelparameter beurteilt werden. Zur Beurteilung müssen die Serum-spiegel von T4, TBG und TSH ebenso wie der klinische Status des Patienten herangezogen werden.

Methodik

Der Gesamt T3 – IMMULITE 2000-Test ist ein kompetitiver Festphasen-, Chemilumineszenz-Immunoassay.

Inkubationszyklen: 1 × 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 zurückhaltend zu interpretieren.

Die Verwendung von EDTA-Plasma ist nicht empfehlenswert.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter Antikoagulantientherapie können eine verlängerte Gerinnungszeit aufweisen.

Blutentnahmeröhrchen von verschiedenen Herstellern können differierende Werte verursachen. Dies hängt von den verwendeten Materialien und Additiven (Gel oder physische Trennbarrieren, Gerinnungsaktivatoren und /oder Antikoagulantien) ab. IMMULITE 2000 Gesamt T3 sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 25 µl Serum

Lagerung: 7 Tage bei 2–8°C oder 2 Monate bei –20°C.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *in vitro*-Diagnostik.



VORSICHT! BIOLOGISCHES RISIKOMATERIAL
Enthält Material humanen Ursprungs. Alle Blutspenden oder Blutkomponenten menschlicher Herkunft wurden nach FDA-genehmigten Methoden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die HI-Viren Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2) sowie von Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und Antikörpern gegen den Hepatitis C-Virus (HCV) getestet. Die Testergebnisse waren negativ (nicht wiederholt reaktiv). Durch keinen Test kann das Vorhandensein dieser oder anderer infektiöser Stoffe vollständig ausgeschlossen werden. Dieses Material ist mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und gemäß der allgemein anerkannten guten Laborpraxis zu handhaben.[8-10]

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.

Reagenzien: Bei 2–8°C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Bestimmten Komponenten wurde Natriumazid (< 0,1 g/dl) hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu verhindern, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

Chemilumineszenz-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.

Gesamt T3 Kugel-Container (L2T312)
Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit T3-Antikörpern (monoklonal, Maus). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

L2KT32: 1 Container **L2KT36:** 3 Container

Gesamt T3 Reagenzbehälter (L2T3A2)
Der barcodierte Reagenz-Container enthält 11,5 ml alkalische Phospatase (Kalb) konjugiert mit T3 (mit Konservierungsmittel). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

L2KT32: 1 Behälter **L2KT36:** 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.

Gesamt T3- Kalibratoren (LT3L, LT3H)
Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) à 2,0 ml mit T3 in prozessiertem Humanserum (mit Konservierungsmittel). 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).

L2KT32: 1 Set **L2KT36:** 2 Sets

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Röhrchen kleben, so daß die Barcodes vom Barcodereader des Systems gelesen werden können.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

Multiverdünnung 1
Zur on-board Verdünnung von Proben hoher Konzentration. Ein Fläschchen konzentriertes (gebrauchsfertig) prozessiertes, normales Humanserum, mit nicht-nachweisbarem Gehalt an Gesamt T3, mit Konservierungsmittel. 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2M1Z: 25 ml

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2M1Z: 3 Etiketten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße
L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm) für die Probenverdünnung
L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Röhrchen; Kontrollen

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Verdünnung, Kalibration, Test- und Qualitätskontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
2 Wochen

Qualitätskontrollseren: Jeweils gültige gesetzlichen Bestimmungen oder Akkreditierungsanforderungen sind bei der Festlegung der Intervalle zur Durchführung der Qualitätskontrollen zu berücksichtigen.

Kontrollen oder Seren mit T3 in zumindest zwei Konzentrationen (niedrige und hohe) verwenden.

Siemens Healthcare Diagnostics empfiehlt die Verwendung von kommerziell verfügbaren Qualitätskontrollen in mindestens 2 Konzentrationen (niedrig und hoch). Der Systembetrieb gilt dann als zufriedenstellend, wenn die Analytwerte innerhalb des für das System zulässigen Kontrollbereichs oder des für die laborinternen Qualitätskontrollverfahren festgelegten zulässigen Bereichs liegen.

Referenzwerte

Erwachsene: In einer Studie des Herstellers mit 169 Serumproben gesunder Blutspender, ohne Hinweis auf eine bestehende Schilddrüsen-Erkrankung, wurden für Erwachsene folgender Referenzbereich ermittelt:

84–172 ng/dl (1,3–2,6 nmol/l)

Median: 119 ng/dl

Die Referenzwerte wurden aus Serumproben in Becton Dickinson plastik Vacutainer Röhrchen ohne Gelbarrieren bestimmt.

Kinder: Die pädiatrischen Referenzbereiche (Kinder und Jugendliche) wurden in Übereinstimmung mit der CLSI-Richtlinie EP28-A3C für den IMMULITE Gesamt T3 Test festgelegt.[11]

Für die Datenanalyse wurde die Population nach Alter in drei Untergruppen eingeteilt:

- Kleinkinder: Probanden im Alter von 1–23 Monaten
- Kinder: Probanden im Alter von 2–12 Jahren
- Jugendliche: Probanden im Alter von 13–20 Jahren

Die Referenzbereiche für Kinder und Jugendliche wurden mit Hilfe einer nonparametrischen Methode ermittelt, wobei die 2,5. und 97,5. Perzentilen der Werteverteilung berechnet wurden. In der Kleinkinderpopulation wurde zur Berücksichtigung der geringeren Probenanzahl der Stichprobe eine robuste, von Horn und Pesce entwickelte Methode zur Ermittlung des Referenzintervalls und der 2,5. und 97,5. Perzentilen verwendet.[11–13]

Die nach Altersgruppe und Anzahl der Proben aufgeschlüsselten Referenzbereiche sind in der Tabelle „Referenzbereiche“ dargestellt.

Pädiatrische Referenzbereiche für IMMULITE 2000 Gesamt T3

Altersgruppe	*n*	Konventionell (ng/dl)	SI nmol/l
Kleinkinder (1–23 Monate)	90	116–241	1,8–3,7
Kinder (2–12 Jahre)	197	109–206	1,7–3,2
Jugendliche (13–20 Jahre)	148	93–170	1,4–2,6

Betrachten Sie diese Grenzwerte nur als *Richtlinien*. Jedes Labor sollte eigene Referenzbereiche ermitteln.

Grenzen der Methode

Zahlreiche physiologische, pharmakologische, pathologische und genetische Faktoren beeinflussen die Interpretation der Gesamt-T3-Ergebnisse. *(Details finden Sie im Abschnitt „Klinische Relevanz“).*

Mehr als 20 % kritisch kranke Patienten mit nichtthyreoidaler Krankheit haben niedrige Serumgesamt -T3-Spiegel.

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/dl ausgedrückt. (Alle Daten wurden — sofern nicht anders angegeben — aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Umrechnungsfaktor:
ng/dl × 0,01536 → nmol/l

Messbereich: 40–600 ng/dl
(0,61–9,2 nmol/l)

Die Methode ist rückführbar auf einen internen Standard, der mittels qualifizierter Materialien und Messmethoden hergestellt wurde.

Analytische Sensitivität: 19 ng/dl
(0,29 nmol/l)

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Testansätzen in Doppelbestimmung gemessen (insgesamt 40 Bestimmungen und 80 Einzelmessungen. (Siehe Tabelle „Präzision“.)

Linearität: Proben wurden in verschiedenen Verdünnungen getestet. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Linearität“.)

Wiederfindung: Die getesteten Proben waren mit drei T3-Lösungen (1660, 2980 und 3840 ng/dl) 1:19 versetzt. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Recovery“.)

Spezifität: Der Assay ist für T3 hochspezifisch. (Siehe Tabelle „Specificity“.)

Bilirubin: Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Biotin: Proben, die Biotin in einer Konzentration von 1500 ng/ml enthalten, zeigen eine Veränderung der Ergebnisse von kleiner oder gleich 10 %. Größere Biotin-Konzentrationen als diese können zu falschen Ergebnissen bei Patientenproben führen.

Hämolyse: Erythrozytenkonzentrate haben in Konzentrationen bis zu 30 µl/ml keinen Einfluss auf die Messung, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride hat in Konzentrationen bis zu 5000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Alternativer Probentyp: Um die Auswirkungen von verschiedenen Probenarten zu untersuchen, wurde Blut von 25 Freiwilligen in Röhrchen ohne Additiva, in Heparin- und Becton Dickinson SST Vacutainer-Rörchen gesammelt. Gleiche Volumina der jeweiligen Proben wurden mit verschiedenen Konzentrationen an T3 versetzt, um Werte im gesamten Kalibrationsbereich zu erhalten, und die Proben anschließend mit dem IMMULITE 2000 Assay für Gesamt T3 gemessen.

(Heparin) = 1,06 (Serum) – 6,66 ng/dl
r = 0,993

(SST) = 1,06 (einfachen Röhrchen) – 4,09 ng/dl
r = 0,994

Mittelwerte:
186 ng/dl (Heparin)
183 ng/dl (SST)
179 ng/dl (Serum)

Methodenvergleich: Der Assay wurde auf der Basis von 340 Patientenproben mit dem IMMULITE-Gesamt-T3 verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 70 bis 540 ng/dl. Siehe graphische Darstellung.) Linearregression:

(IML 2000) = 0,91 (IML) + 13,6 ng/dl
r = 0,987

Mittelwert:
135 ng/dl (IMMULITE 2000)
133 ng/dl (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

T3 Total

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro*, utilizado con los analizadores IMMULITE® 2000 — para la medición cuantitativa de la triiodotironina total circulante (T3) en suero. Las mediciones de T3 se utilizan como ayuda en el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad tiroidea.

Números de Catálogo:
L2KT32 (200 tests) **L2KT36** (600 tests)

Código del Test: **T3** Color: **Violeta**

Resumen y Explicación del Test

Bajo condiciones fisiológicas normales, la T3 representa aproximadamente el 5 por ciento de las hormonas tiroideas séricas. A pesar de estar presente en menor concentración, la T3 tiene una mayor actividad metabólica, turnover más rápido y mayor volumen de distribución que la T4 circulante[1]. Las publicaciones que indican que la tirotoxicosis puede ser causada por una concentración anormalmente elevada de T3 — en vez de T4 — han reforzado la importancia de las determinaciones de T3 sérica[2-5]. Además, la determinación de T3 es una herramienta importante para la monitorización de pacientes hipotiroideos que reciben una terapia con liotironina sódica. A diferencia de los test "T3 Uptake", que calculan la saturación de las proteinas transportadoras de hormonas tiroideas, los análisis de T3 total miden en la actualidad los niveles circulantes de triiodotironina. Otras publicaciones indican que los niveles de T3 distinguen con claridad entre sujetos eutiroideos e hipertiroideos, aunque distingan con menor claridad entre sujetos eutiroideos e hipotiroideos[1].

Numerosas condiciones no relacionadas con enfermedades tiroideas pueden dar lugar a valores anormales de T3[1,6-9]. Consecuentemente, los valores de T3 total no deberían usarse por sí sólos para establecer el estado tiroideo de un individuo. Los niveles séricos de T4, TBG (globulina transportadora de tiroides), TSH (Hormona estimuladora de tiroides) y otros parámetros clínicos deben ser tenidos en cuenta para ello.

Principio del análisis

El IMMULITE 2000 T3 Total es un inmunoensayo enzimático quimioluminiscente competitivo en fase sólida.

Ciclos de incubación: 1 × 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.

El plasma EDTA no está recomendado para su uso.

La centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El T3 Total 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: 25 µl de suero

Conservación: 7 días a 2–8°C, o 2 meses a –20°C.

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.



¡PRECAUCIÓN! RIESGO BIOLÓGICO POTENCIAL
Contiene material de origen humano. Cada donación de sangre humana o componente sanguíneo ha sido probada por métodos aprobados por la FDA con el fin de detectar la presencia de anticuerpos de los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2), así como el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y el anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (VHC). Los resultados de estas pruebas fueron negativos (no repetidamente reactivos). Ninguna prueba ofrece total garantía de que en las muestras no haya estos agentes infecciosos u otros; por tanto, este material se deberá manipular conforme a las prácticas recomendables de laboratorio y las precauciones

universales[8-10].

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.

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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, 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 T3 Total (L2T312)
Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpo monoclonal murino anti-T3. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KT32: 1 cartucho **L2KT36:** 3 cartuchos

Vial de reactivo de T3 Total (L2T3A2)
Con códigos de barras. 11,5 ml de fosfatasa alcalina (de intestino de ternera), conjugada con T3, con conservante. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KT32: 1 vial **L2KT36:** 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 T3 Total (LT3L, LT3H)
Dos viales (bajo y alto), cada uno con 2,0 ml de T3 en suero humano procesado, con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.

L2KT32: 1 juego **L2KT36:** 2 juegos

Antes de hacer un ajuste, colocar las etiquetas a las alícuotas apropiadas (suministradas con el kit) sobre tubos de ensayo, de forma tal que los códigos de barras puedan ser leídos por el lector.

Componentes del kit que se suministran por separado

Multidiluyente 1
Para la dilución de muestras de alta concentración dentro del equipo. Un vial de un concentrado de suero humano normal (listo para su uso) con niveles indetectables de T3 total, con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2M1Z: 25 ml

Se suministran etiquetas con códigos de barras para usarse con este diluyente. Antes de uso, colocar la etiqueta con el código de barras en un tubo de ensayo de 16 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2M1Z: 3 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 × 100 mm)
L2ZC: 250 Casquillos Del Tubo Del Diluyente De la Muestra

También necesarios
Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles

Ensayo

Aviso: para obtener un funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el Manual del

Operador de los sistemas IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado: 2 semanas

Muestras de Control de Calidad: Seguir las reglamentaciones gubernamentales o los requisitos de acreditación para conocer la frecuencia de control de calidad.

Utilizar controles o pooles de sueros con al menos dos niveles diferentes de T3 (bajo y alto).

Siemens Healthcare Diagnostics recomienda el uso de materiales de control de calidad comercializados con al menos 2 niveles (bajo y alto). Un nivel de funcionamiento satisfactorio se consigue cuando los valores obtenidos del analito están dentro del rango de control aceptable para el sistema, o dentro del rango establecido determinado por un programa adecuado de control de calidad interno de laboratorio.

Valores Esperados

Adultos: 169 muestras séricas de sujetos aparentemente sanos, fueron procesados con el ensayo IMMULITE 2000 T3 Total. El análisis no paramétrico de los resultados dió lugar a un valor medio de 119 ng/dl y un rango del 95% comprendido

entre 84–172 ng/dl (1,3–2,6 nmol/l)

Los rangos de referencia han sido generados utilizando muestras de suero recogidas en tubos Becton Dickinson plástico vacutainer sin barreras de gel.

Niños: Los intervalos de referencia de la población pediátrica (niños y adolescentes) para el ensayo IMMULITE T3 Total se establecieron de acuerdo con el documento EP28-A3C del CLSI[11].

La población se dividió en tres subgrupos de edad para analizar los datos:

- Lactantes: sujetos de 1–23 meses de edad
- Niños: sujetos de 2–12 años de edad
- Adolescentes: sujetos de 13–20 años de edad

Se usó un abordaje no paramétrico para establecer los intervalos de referencia para niños y adolescentes, de los que se calcularon los percentiles 2,5 y 97,5 de distribución de los valores. Para la población de lactantes, Horn y Pesce desarrollaron una medición sólida de la ubicación y propagación que se usó para calcular los intervalos de referencia de los percentiles 2,5 y 97,5, lo que permite incluir el tamaño de muestra más pequeño[11–13].

Los intervalos de referencia detallados por grupo de edad y número de muestras se presentan en la tabla Intervalos de referencia.

Intervalos de referencia de IMMULITE 2000 T3 Total para la población pediátrica

Grupo de edad	*n*	Convencional ng/dl	SI nmol/l
Lactantes (1–23 meses)	90	116–241	1,8–3,7
Niños (2–12 años)	197	109–206	1,7–3,2
Adolescentes (13–20 años)	148	93–170	1,4–2,6

Estos límites han de considerarse sólo como una guía. Cada Laboratorio deberá establecer sus propios rangos de referencia.

Limitaciones

Muchos factores fisiológicos, farmacológicos, patológicos y genéticos afectan la interpretación de los resultados del T3 total. (Refiérase a la sección de Resumen y Explicación.)

Más del 20% de los pacientes con enfermedad no tiroidea que están críticamente enfermos tienen bajos niveles de T3 total en suero.

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis *in vitro*. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos

séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasione un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia, no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

Características Analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo ver las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en ng/dl. (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/dl × 0,01536 → nmol/l

Rango de Calibración: 40 a 600 ng/dl (0,61 a 9,2 nmol/l)

El ensayo es trazable a un estándar interno fabricado usando procedimientos de medida y materiales cualificados.

Sensibilidad: 19 ng/dl (0,29 nmol/l)

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. (Ver la tabla “Precisión”.)

Linealidad: Las muestras fueron analizadas en varias diluciones. (Ver la tabla de “Linearity” para resultados representativos.)

Recuperación: Se analizaron muestras sobrecargadas 1 en 19 con tres soluciones (1660, 2980 y 3840 ng/dl). (Ver la tabla de “Recovery” para resultados representativos.)

Especificidad: El ensayo es altamente específico para T3. (Ver la tabla de “Specificity”.)

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina, en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Biotina: Las muestras que contienen biotina en una concentración de 1500 ng/ml han demostrado un cambio igual o inferior al 10% en los resultados. Una concentración de biotina superior a esta puede producir resultados incorrectos para las muestras del paciente.

Hemolisis: La presencia de eritrocitos hasta concentraciones de 30 µl/ml no tiene efecto en los resultados, en lo concerniente a la precisión del ensayo.

Lipemia: La presencia de triglicéridos en concentraciones hasta 5000 mg/dl no tiene efecto alguno en los resultados, en lo correspondiente a la precisión del ensayo.

Tipo de Muestra Alternativa: para evaluar el efecto de los diferentes tipos de muestras alternativos, se recogió sangre de 25 voluntarios en tubos normales, tubos con Heparina y tubos vacutainer SST de Becton Dickinson. Volúmenes iguales de las diferentes muestras fueron sobrecargadas con diferentes concentraciones de T3, con la finalidad de cubrir todo el rango de calibración del ensayo, y procesadas con el procedimiento T3 Total IMMULITE 2000.

(Heparina) = 1,06 (Suero) – 6,66 ng/dl
r = 0,993

(SST) = 1,06 (tubos simples) – 4,09 ng/dl
r = 0,994

Medias:
186 ng/dl (Heparina)
183 ng/dl (SST)
179 ng/dl (Suero)

Comparación del Método: El ensayo fue comparado con el IMMULITE T3 Total en 340 muestras de pacientes. (Rango de Concentración: aproximadamente 70 a 540 ng/dl. Ver el gráfico.) Por regresión linear:

(IML 2000) = 0,91 (IML) + 13,6 ng/dl
r = 0,987

Medias:
135 ng/dl (IMMULITE 2000)
133 ng/dl (IMMULITE)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

T3 Totale

Domaine d'utilisation : Pour utilisation diagnostique *in vitro* avec les analyseurs des systèmes IMMULITE® 2000 — pour la détermination quantitative de la triiodothyronine totale circulante (T3) dans le sérum. Le dosage de T3 est utilisé dans le diagnostic et le traitement des maladies thyroïdiennes.

Référence catalogue :
L2KT32 (200 tests) **L2KT36** (600 tests)

Code produit : **T3**
Code couleur : **Violet**

Introduction

Dans des conditions physiologiques normales, la T3 constitue environ 5 % des hormones thyroïdiennes dans le sérum. Bien que présente à de plus faibles concentrations, la T3 possède une plus grande activité biologique et un métabolisme plus rapide que la T4.[1] Des études ont montré qu'une thyroxicose peut, dans certains cas, être associée à des taux anormalement élevés de T3 et non de T4. Ceci renforce l'intérêt des dosages de T3.[2-5] Par ailleurs, le dosage de T3 est un outil important dans le suivi des patients sous traitement substitutif. Contrairement aux dosages de T-Uptake qui mesurent la capacité des protéines de transport (TBG) à lier les hormones thyroïdiennes, le dosage de la T3 totale mesure le taux de T3 circulante. Dans la littérature, il est clairement établi que les taux de T3 permettent de bien distinguer les états hyperthyroïdiens des euthyroïdiens, mais la discrimination entre l'hypothyroïdie et l'euthyroïdie est beaucoup moins claire.[1]

De nombreux facteurs indépendants des pathologies thyroïdiennes peuvent conduire à des valeurs de T3 anormales.[1,6-9] Par conséquent, le dosage de la T3 seule ne peut pas permettre de réaliser le diagnostic de l'état thyroïdien d'un individu. Les dosages de T4 totale, TBG, TSH et d'autres données cliniques doivent être pris en considération.

Principe du test

IMMULITE 2000 T3 Totale est une immunoenzymologie chimioluminescente compétitive à phase solide.

Cycles d'incubation : 1 × 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.

Le plasma EDTA est déconseillé.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dûs 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 T3 Totale 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 : 25 µl de sérum

Conditions de conservation : 7 jours à 2–8°C ou 2 mois à –20°C.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.



AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL
Contient du matériel d'origine humaine. Chaque don de sang ou de composant sanguin humain a été testé selon des méthodes homologuées par la FDA afin de détecter la présence d'anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2), ainsi que la présence d'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) et d'anticorps anti-virus de l'hépatite C (VHC). Les résultats de ces tests se sont révélés négatifs (ou positifs mais de façon non répétable). Aucun test ne peut garantir totalement l'absence d'agents infectieux tels que ceux-ci ou d'autres. Par conséquent, ce matériel doit être manipulé conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux précautions universelles.[8-10]

AVERTISSEMENT : Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.

Réactifs : conserver les réactifs à 2–8°C. Eliminer les déchets conformément à la réglementation en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-HCV et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

Substrat chimiluminescent : éviter les contaminations et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

Eau : utiliser uniquement de l'eau distillée ou désionisée.

Matériel fourni

Les composants de la trousse ne peuvent être utilisés que conjointement. Les étiquettes à l'intérieur du coffret sont nécessaires au dosage.

Cartouche de billes T3 Totale (L2T312)
Avec code-barres. 200 billes revêtues d'un anticorps monoclonal murin anti-T3. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KT32 : 1 cartouche **L2KT36 :** 3 cartouches

Cartouche à réactif T3 Totale (L2T3A2)
Avec code-barres. 11,5 ml d'un réactif composé de T3 marquée à la phosphatase alcaline provenant des intestins de veau, avec conservateur. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KT32 : 1 cartouche **L2KT36 :** 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 T3 Totale (LT3L, LT3H)
2 flacons d'ajusteurs (« bas » et « haut ») de 2,0 ml chacun contenant de la T3 dans un sérum humain prétraité, avec conservateur. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KT32 : 1 jeu **L2KT36 :** 2 jeux

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

Composants du coffret fournis séparément

Multi-Diluant 1
Pour la dilution à bord des échantillons de concentration élevée. Un flacon de solution concentrée (prête à l'emploi) Contenant du sérum humain exempt de T3 Totale, avec conservateur. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2M1Z : 25 ml

Les étiquttes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 × 100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2M1Z : 3 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 × 100 mm)
L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

Egalement requis
Eau distillée ou désionisée ; tubes en verre ; contrôles

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000.

Voir le Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000 pour la préparation, le démarrage du système, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé : 2 semaines

Echantillons pour le contrôle de qualité : Suivre les réglementations gouvernementales et les exigences relatives aux accréditations en matière de fréquence de contrôle qualité.

Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) de T3.

Siemens Healthcare Diagnostics recommande d'utiliser des échantillons de contrôle de qualité en vente dans le commerce et comprenant au moins 2 niveaux (bas et haut). Un niveau de performance satisfaisant est atteint lorsque les valeurs d'analyte obtenues se situent dans l'intervalle de contrôle acceptable du système ou dans un intervalle déterminé par un schéma de contrôle de qualité approprié interne au laboratoire.

Valeurs attendues

Échantillons adultes : 169 échantillons sériques provenant de sujets apparemment en bonne santé ont été dosés avec le test IMMULITE 2000 T3 totale. L'analyse non-paramétrique des résultats a donné une médiane de 119 ng/dl et un domaine centré à 95 % de

84–172 ng/dl (1,3–2,6 nmol/l).

Les valeurs de référence ont été obtenues en utilisant des sérums prélevés sur tubes vacutainer plastique Becton Dickinson sans gel.

Échantillons pédiatriques : Les intervalles de référence pour la population pédiatrique (enfants et adolescents) ont été établis pour le dosage IMMULITE T3 Totale, conformément à la directive EP28-A3C du CLSI.[11]

Pour l'analyse des données, la population a été divisée en trois sous-groupes d'âges :

- Nourrissons : sujets de 1–23 mois
- Enfants : sujets de 2–12 ans
- Adolescents : sujets de 13–20 ans

Une approche non paramétrique a été utilisée afin d'établir les intervalles de référence pour les enfants et les adolescents pour lesquels les 2,5ème et 97,5ème percentiles de la distribution des valeurs ont été calculés. Comme la taille d'échantillon de la population des nourrissons est plus réduite, il a été utilisé une mesure robuste de la position et de la dispersion, telle qu'elle a été développée par Horn et Pesce, pour établir les intervalles de référence des 2,5ème et 97,5ème percentiles.[11–13]

Les intervalles de référence détaillés par groupe d'âge et nombre d'échantillons sont indiqués dans le tableau des Intervalles de référence.

Intervalles de référence pédiatrique d'IMMULITE 2000 T3 Totale

Groupe d'âge	*n*	Conventionnel ng/dl	SI nmol/l
Nourrissons (1–23 mois)	90	116–241	1,8–3,7
Enfants (2–12 ans)	197	109–206	1,7–3,2
Adolescents (13–20 ans)	148	93–170	1,4–2,6

Ces valeurs sont fournies *à titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs normales.

Limites

De nombreux facteurs physiologiques, pharmacologiques, pathologiques et génétiques peuvent affecter l'interprétation des résultats de la T3 totale. (Voir Introduction.)

Plus de 20 % des patients gravement malades, mais ne souffrant pas d'atteinte de la thyroïde, ont des taux de T3 totale peu élevés dans le sérum.

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec les immunodosages *in vitro*. [Voir Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34:27-33.] Les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre des sérums rares et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en ng/dl. (En l'absence de précision supplémentaire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques prélevés sur tubes sans anticoagulant, ni gel, ni activateur de la coagulation.)

Facteur de conversion :
ng/dl × 0,01536 → nmol/l

Domaine de mesure : de 40 à 600 ng/dl (de 0,61 à 9,2 nmol/l)

Le dosage peut être retracé à un standard interne, manufacturé à l'aide de matériaux et procédures de mensuration qualifiées.

Sensibilité analytique : 19 ng/dl (0,29 nmol/l)

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.)

Test de récupération : les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions (1660, 2980 et 3840 ng/dl). (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : Le test est hautement spécifique de la T3. (Voir le tableau « Specificity ».)

Bilirubine : La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

Biotine : Les échantillons contenant de la biotine à une concentration de 1500 ng/ml présentent un changement de résultats inférieur ou égal à 10 %. Des concentrations de biotine supérieures à cette valeur peuvent entraîner des résultats d'échantillons patients erronés.

Hémolyse : La présence d'agrégat d'hématies jusqu'à une concentration de 30 µl/ml, n'a aucun effet sur les résultats quant à la précision du dosage.

Lipémie : La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 5000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

Autres types d'échantillons : pour estimer l'effet de l'utilisation de différents type d'échantillons, 25 volontaires ont été prélevés sur tubes secs, héparinés et sur tubes vacutainer SST Becton Dickinson. Des volumes égaux de ces différents échantillons ont été mélangés avec plusieurs concentrations d' T3 pour obtenir des valeurs à l'intérieur du domaine de mesure du test puis dosés avec le protocole l'IMMULITE 2000 T3 Totale.

(Hépariné) = 1,06 (Sérum) – 6,66 ng/dl
r = 0,993

(SST) = 1,06 (tubes ordinaires) – 4,09 ng/dl
r = 0,994

Moyennes :
186 ng/dl (Hépariné)
183 ng/dl (SST)
179 ng/dl (Sérum)

Comparaison de méthodes : Le test a été comparé au test IMMULITE T3 Totale sur les échantillons de 340 patients (dont les concentrations allaient d'environ 70 à 540 ng/dl. Voir graphique.)

Par régression linéaire :

(IML 2000) = 0,91 (IML) + 13,6 ng/dl
r = 0,987

Moyennes :
135 ng/dl (IMMULITE 2000)
133 ng/dl (IMMULITE)

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

Le Système Qualité de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. est certifié ISO 13485.

Italiano

T3 Totale

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE® 2000 per la misurazione quantitativa della triiodotironina (T3) totale circolante nel siero. Le misurazioni di T3 vengono utilizzate per la diagnosi e il trattamento delle patologie tiroidee.

Numero di Codice:
L2KT32 (200 test) **L2KT36** (600 test)

Codice del Test: **T3** Colore: **Viola**

Riassunto e Spiegazione del Test

In condizioni normali, la T3 rappresenta circa il 5% degli ormoni tiroidei presenti nel siero. Benchè presente a basse concentrazioni, la T3 ha una grande attività metabolica intrinseca, un turnover molto rapido e un'ampia distribuzione rispetto alla T4 in circolo.[1] Studi effettuati hanno evidenziato che la tireotossicosi può essere causata da concentrazioni anormalmente alte di T3 piuttosto che di T4 avallando ulteriormente l'importanza del dosaggio della T3.[2-5] Inoltre la misurazione della T3 costituisce uno strumento importante nel monitoraggio di pazienti ipertiroidei in terapia con liotironina di sodio. Diversamente dai test della “T3 Uptake” che valutano la saturazione delle proteine leganti l'ormone tiroideo, l'analisi della T3 totale misura realmente i livelli di triiodotironina in circolo. Molti studi indicano che i livelli di T3 consentono di distinguere chiaramente tra pazienti eutiroidei ed ipertiroidei, ma forniscono una separazione meno netta tra pazienti ipotiroidei ed eutiroidei.[1]

Numerose condizioni non correlate con la malattia tiroidea possono portare a valori anomali di T3.[1,6-9] Di conseguenza, i valori di T3 totale non devono essere utilizzati da soli per stabilire lo stato tiroideo di un paziente. Occorre prendere in esame anche i livelli di T4 nel siero, TBG (thyroid binding globulin), TSH (thyroid stimulating hormone) ed altri fattori clinici.

Principio del Dosaggio

Il dosaggio IMMULITE 2000 T3 totale é un dosaggio immunoenzimatico in chemiluminescenza ed in fase solida.

Cicli d'incubazione: 1 × 30 minuti

Prelievo del Campione

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

I campioni emolizzati possono indicare un trattamento non idoneo del campione prima dell'arrivo al laboratorio; per questo motivo, i risultati devono essere interpretati con prudenza.

Non si consiglia l'utilizzo di plasma EDTA.

La centrifugazione dei campioni di siero prima che la coagulazione sia completa può produrre fibrina. Per evitare risultati errati dovuti alla presenza di fibrina, assicurarsi che il processo di coagulazione sia completo prima di centrifugare i campioni. Alcuni campioni, in modo particolare quelli di pazienti sottoposti a terapia con anticoagulanti, possono richiedere tempi di coagulazione più lunghi.

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. Il dosaggio IMMULITE 2000 T3 totale non é stato verificato tutti i tipi possibili di provette. Consultare la sezione riguardante i Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume richiesto: 25 µL di siero

Conservazione: 7 giorni a 2–8°C o 2 mesi a –20°C.

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.



ATTENZIONE! POTENZIALE PERICOLO BIOLOGICO
Contiene materiale di origine umana. Ciascuna donazione di sangue o componenti ematici umani è stata testata con metodi approvati dalla FDA per rilevare la presenza di anticorpi al virus dell'immunodeficienza umana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2), nonché per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e gli anticorpi al virus dell'epatite C (HCV). I risultati del test sono stati negativi (non ripetutamente reattivi). Nessun test offre assicurazione completa che questi o altri agenti infettivi siano assenti; questo materiale va trattato utilizzando le corrette prassi di laboratorio e le precauzioni universali.[8-10]

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale portatore e trasmettitore di agenti patogeni.

Reagenti: Conservare a 2–8°C. Eliminare in conformità alle leggi applicabili.

Seguire le precauzioni universali, 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 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 T3 Totale (L2T312)
Con codice a barre. 200 sferette coattate con un anticorpo monoclonale di ratto anti-T3. Stabili a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KT32: 1 confezione **L2KT36:** 3 confezioni

Porta Reagente T3 Totale (L2T3A2)
Con codice a barre. 11,5 ml di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con T3, con conservanti. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KT32: 1 Porta Reagente
L2KT36: 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.

Calibratori T3 Totale (LT3L, LT3H)
Due flaconi (Basso ed Alto), ciascuno con 2,0 mL di T3 in siero umano processato, con conservanti. Stabile a 2–8°C per

30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

L2KT32: 1 set **L2KT36:** 2 set

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste sulle provette delle aliquote (fornite col kit) per la registrazione dei codici a barre da parte del lettore.

Componenti del Kit Forniti Separatamente

Multidiluente 1
Per la diluizione interna di campioni ad elevata concentrazione. Una provetta di siero umano normale processato, concentrato (pronto all'uso), contenente livelli da non rilevabili a bassi di T3 totale, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2M1Z: 25 mL

Vengono fornite le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm cosicchè i codici a barre possano essere letti dal lettore interno.
L2M1Z: 3 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 × 100 mm) per Diluente del Campione
L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluente del Campione

Materiali richiesti
Acqua distillata o deionizzata; provette di vetro; controlli

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 2 settimane

Controllo di Qualità: Per la frequenza del controllo di qualità seguire le normative in vigore o i requisiti di accreditamento.

Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (alto e basso) di T3.

Siemens Healthcare Diagnostics consiglia l'utilizzo di materiali di controllo della qualità disponibili in commercio con almeno 2 livelli (bassi e alti). Un livello soddisfacente di prestazioni si raggiunge quando i valori dell'analita ottenuti rientrano nei range di accettabilità del Controllo per il sistema o nei range stabiliti all'interno del laboratorio attraverso un programma appropriato di valutazione del controllo di qualità.

Valori Attesi

Popolazione adulta: Con il dosaggio IMMULITE 2000 T3 Totale sono stati processati 169 campioni di siero provenienti da pazienti in apparente buono stato di salute. L'analisi non parametrica dei risultati ha prodotto un valore mediano di 119 ng/dL ed un range centrale al 95% di

84–172 ng/dL (1,3–2,6 nmol/L)

I range di riferimento sono stati generati utilizzando campioni di siero raccolti in provette vacutainer Becton Dickinson plastica senza barriere di gel.

Popolazione pediatrica: Sono stati stabiliti gli intervalli di riferimento per la popolazione pediatrica (bambini e adolescenti) per il dosaggio IMMULITE T3 Totale in conformità alle linee guida CLSI EP28-A3C.[11]

Per l'analisi dei dati, la popolazione è stata divisa in tre sottogruppi in base all'età:

- Neonati: pazienti con età 1−23 mesi
- Bambini: pazienti con età 2−12 anni
- Adolescenti: pazienti con età 13−20 anni

È stato utilizzo un approccio non parametrico per stabilire gli intervalli di riferimento per bambini e adolescenti quando sono stati calcolati i percentili 2,5 e 97,5 della distribuzione dei valori. Per la popolazione infantile, è stata utilizzata una misura robusta della posizione e della diffusione sviluppata da Horn e Pesce per la stima degli intervalli di

riferimento dei percentili 2,5 e 97,5, con il ridimensionamento del campione più piccolo.[11–13]

Gli intervalli di riferimento forniti in dettaglio in base ai gruppi di età e numeri di campioni possono essere osservati nella tabella Intervalli di riferimento.

Intervalli di riferimento pediatrici di IMMULITE 2000 T3 Totale

Gruppo di età	*n*	Convenzionale ng/dL	SI nmol/L
Neonati (1–23 mesi)	90	116–241	1,8–3,7
Bambini (2–12 anni)	197	109–206	1,7–3,2
Adolescenti (13–20 anni)	148	93–170	1,4–2,6

Detti valori dovrebbero essere considerati solo come *suggerimento*. Ogni laboratorio deve stabilire i propri range di riferimento.

Limiti

Tanti fattori fisiologici, farmacologici, patologici e genetici influiscono sull'interpretazione dei risultati della T3 totale. (Consultare il paragrafo “Ricapitolazione e Spiegazione”.)

Oltre il 20% dei pazienti affetti da patologie non tiroidee, in maniera critica, presentano bassi livelli di T3 totale nel siero.

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 tavole e grafici per dati *rappresentativi*. I risultati sono indicati in ng/dL. (Laddove non diversamente specificato, tutti i dati sono stati generati da campioni di siero prelevati in provette senza gel separatore o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.)

Fattore di Conversione:
ng/dL × 0,01536 → nmol/L

Range di Calibrazione: 40 a 600 ng/dL (0,61 a 9,2 nmol/L)

Il dosaggio è standardizzato verso uno standard interno preparato usato con materiali e secondo procedure di qualità.

Sensibilità Analitica: 19 ng/dL (0,29 nmol/L)

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: Sono stati dosati campioni a diluizioni diverse. (Vedi tabella "Linearity" per dati rappresentativi.)

Recupero: Sono stati dosati campioni 1:19 ai quali sono state aggiunte tre soluzioni di T3 (1660, 2980 e 3840 ng/dL). (Vedi tabella "Recovery" per dati rappresentativi.)

Specificità: Il dosaggio è estremamente specifico per la T3 (Vedi tabella "Specificity".)

Bilirubina: La presenza di bilirubina in concentrazioni fino a 200 mg/L non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Biotina: I campioni che contengono biotina a una concentrazione di 1500 ng/mL dimostrano una variazione nei risultati inferiore o pari al 10%. Le concentrazioni di biotina superiori a questo valore potrebbero portare a risultati non corretti dei campioni dei pazienti.

Emolisi: La presenza di globuli rossi impaccati in concentrazioni fino a 30 µL/mL non ha effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Lipemia: La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 5000 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Tipo di Campione Alternativo: Per determinare l'effetto di campioni alternativi, è stato prelevato del sangue da 25 volontari in provette semplici, eparinizzate e Becton Dickinson vacutainer SST. Ad eguali volumi di campioni misti sono state aggiunte varie concentrazioni di T3 totale per ottenere valori lungo l'intero range di calibrazione del dosaggio e quindi dosati con il kit IMMULITE 2000 T3 totale.

(Eparina) = 1,06 (Siero) – 6,66 ng/dL
r = 0,993

(SST) = 1,06 (Provette Semplici) – 4,09 ng/dL
r = 0,994

Valore medio:
186 ng/dL (Eparina)
183 ng/dL (SST)
179 ng/dL (Siero)

Comparazione di Metodi: Il dosaggio è stato comparato al dosaggio IMMULITE T3 totale su 340 campioni. (Range di concentrazione: da 70 fino a 540 ng/dL. Vedi grafico.) Con regressione lineare:

(IML 2000) = 0,91 (IML) + 13,6 ng/dL
r = 0,987

Valore medio:
135 ng/dL (IMMULITE 2000)
133 ng/dL (IMMULITE)

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore Nazionale.

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

T3 Total

Utilização: Para uso diagnóstico *in vitro* com os Analisadores dos Sistemas IMMULITE® 2000 – para a medição quantitativa da triiodotironina circulante total (T3) em soro. As medições de T3 são utilizadas no diagnóstico e tratamento de doença da tiróide.

Números de catálogo:
L2KT32 (200 testes) **L2KT36** (600 testes)

Código do teste: **T3** Cor: **Violeta**

Sumário e explicação do teste

Em condições fisiológicas normais, o T3 representa aproximadamente 5% das hormonas da tiróide presentes no soro. Apesar de se apresentar em baixas concentrações, o T3 tem uma maior actividade metabólica intrínseca, rápida taxa de síntese e degradação e maior volume de distribuição que o T4[1]. Publicações recentes mostram que a tirotoxicose pode ser causada por concentrações de T3 anormalmente altas, ao contário do T4, estas publicações têm reforçado a importância das medidas dos doseamentos de T3[2-5]. Adicionalmente, o doseamento do T3 torna-se uma ferramenta importante na monitorização de doentes com hipotiroidismo sob terapia com liotironina sódica. Contrariamente aos testes de T3 Uptake, os quais avaliam a saturação das hormonas da tiróide ligadas às proteínas de transporte, a análise do T3 total mede, na realidade, os níveis de triidotironina circulantes. Muitos artigos indicam que os níveis de T3 distinguem claramente indivíduos com eutiroidismo de indivíduos com hipertiroidismo, mas fornece uma separação pouco clara entre indivíduos com hipotiroidismo dos indivíduos normais[1].

Várias condições não relacionadas às doenças da tiróide podem causar valores de T3 anormais[1,6-9]. Consequentemente, valores de T3 não devem ser usados por si só na avaliação da função tiroideia de um indivíduo. Devem ser também considerados valores do T4, TBG e do TSH bem como outros dados clínicos.

Princípio do procedimento

O IMMULITE 2000 Total T3 é um imunoensaio competitivo de fase sólida, de enzimas quimico-luminosas.

Ciclos de incubação: 1 × 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.

O plasma EDTA não é recomendado para uso.

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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 Total T3 não foram ainda testados com todas as possiveis 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: 25 µL de soro

Estabilidade: 7 dias a 2–8°C, ou 2 meses a –20°C.

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

PRECAUÇÃO! POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO
Contém material de origem humana. Cada dádiva de sangue ou componente de sangue humano foi testada pelos métodos aprovados pela FDA quanto à presença de anticorpos dos vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e tipo 2 (VIH-2), bem como do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e dos anticorpos do vírus da hepatite C (VHC). Os resultados dos testes foram negativos (não repetidamente reativos). Nenhum teste oferece total garantia de que estes ou outros agentes infeciosos estejam ausentes; este material deve ser manuseado de acordo com as boas práticas laboratoriais e precauções universais[8-10].

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.

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.

A azida sódica foi adicionada como conservante a concentrações inferiores a 0,1 g/dL. Quando eliminar o produto, utilize água em abundância para evitar a acumulação de azidas metálicas potencialmente explosivas nas canalizações de chumbo e cobre.

Substrato quimioluminescente: Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula do substrato).

Água: Utilize água destilada ou desionizada.

Materiais fornecidos

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. As etiquetas no interior das caixas são necessárias para o ensaio.

Embalagem de pérolas de T3 Total (L2T312)
Com código de barras. Contém 200 pérolas, revestidas com anticorpo monoclonal de rato anti-T3. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KT32: 1 embalagem **L2KT36:** 3 embalagens

Embalagem de reagentes de T3 Total (L2T3A2)
Com código de barras. Contém 11,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugado com T3, com conservante. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KT32: 1 embalagem **L2KT36:** 3 embalagens

Antes de utilizar, retire a parte superior da etiqueta na perfuração, sem danificar o código de barras. Remova o selo de alumínio do topo da embalagem, e encaixe a tampa deslizante nas rampas da tampa do reagente.

Ajustes T3 Total (LT3L, LT3H)
Dois frascos (nível alto e baixo) de 2,0 mL cada, de T3 em matriz de soro humano, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

L2KT32: 1 conjunto **L2KT36:** 2 conjuntos

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas de alíquota apropriadas (fornecidas com o "kit") em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Multidiluente 1
Para diluição de amostras no aparelho. Um frasco de concentrado pronto a usar, constituído por soro humano normal, processado, com níveis baixos ou indetectáveis de T3 total, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2M1Z: 25 mL

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2M1Z: 3 etiquetas

L2SUBM: Substrato quiomioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Kit de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)
L2ZT: 250 Tubos de diluente da amostra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

Também necessário
Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos

Procedimento de doseamento

Ter em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000.

Consultar o Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000 relativamente aos procedimentos de preparação, diluição, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável: 2 semanas

Amostras de controlo de qualidade: Observe os regulamentos governamentais ou os requisitos de acreditação quanto à frequência do controlo de qualidade.

Utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de T3.

A Siemens Healthcare Diagnostics recomenda a utilização de materiais de controlo de qualidade comercialmente disponíveis com pelo menos 2 níveis (baixo e alto). É alcançado um nível de desempenho satisfatório quando os valores dos analitos obtidos estiverem dentro dos Limites de Controlo Aceitáveis para o sistema ou dentro dos limites estabelecidos e determinados pelo regime de controlo de qualidade laboratorial interno adequado.

Valores de Referência

Adulto: 169 amostras de soro de indivíduos aparentemente saudáveis foram processadas pelo método T3 Total IMMULITE 2000. Uma análise não-paramétrica dos resultados reportou um valor mediano de 119 ng/dL com um intervalo de 95% entre:

84–172 ng/dL (1,3–2,6 nmol/L)

As gamas de referência foram obtidas com amostras de soro colhidas em tubos vacutainer plástico da Becton Dickinson, sem barreiras de gel.

Pediátrico: Os intervalos de referência da população pediátrica (crianças e adolescentes) para o ensaio T3 Total IMMULITE foram estabelecidos de acordo com a norma EP28-A3C do CLSI[11].

Para efeitos de análise dos dados, a população foi dividida em três faixas etárias:

- Bebés: indivíduos com 1–23 meses de idade
- Crianças: indivíduos com 2–12 anos de idade
- Adolescentes: indivíduos com 13–20 anos de idade

Utilizou-se uma abordagem não paramétrica para estabelecer os intervalos de referência de crianças e adolescentes, segundo a qual foram calculados os percentis 2,5 e 97,5 da distribuição de valores. Para a população de bebés, utilizou-se uma medição sólida de localização e dispersão, conforme desenvolvido por Horn e Pesce, para estimar os intervalos de referência dos percentis 2,5 e 97,5, abrangendo o tamanho de amostra mais pequeno[11–13].

Os intervalos de referência discriminados por faixa etária e número de amostras são apresentados na tabela de Intervalos de referência.

Intervalos de referência pediátricos do T3 Total IMMULITE 2000

Faixa etária	*n*	Convencional ng/dL	SI nmol/L
Bebés (1–23 meses)	90	116–241	1,8–3,7
Crianças (2–12 anos)	197	109–206	1,7–3,2
Adolescentes (13–20 anos)	148	93–170	1,4–2,6

Estes valores devem ser considerados apenas como directrizes. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores.

Limitações

Vários fatores fisiológicos, farmacológicos, patológicos e genéticos podem afectar a interpretação dos resultados do T3 total. Ver a secção Sumário e Explicação do Teste.

Mais de 20% dos doentes em estado crítico com doenças não tiorideias possuem níveis baixos em soro de T3 total.

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 de doseamento. Os resultados são apresentados em ng/dL. 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/dl × 0,01536 → nmol/L

Calibração: 40 a 600 ng/dL (0,61 a 9,2 nmol/L)

O ensaio é monotorizado com padrão interno feito com materiais qualificados e procedimentos de medição.

Sensibilidade Analítica: 19 ng/dL (0,29 nmol/L)

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 "Precisão".)

Linearidade: As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. (Ver a tabela de "Linearity" para dados representativos.)

Recuperação: As amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 com três soluções T3 (1660, 2980 e 3840 ng/dL) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

Especificidade: O doseamento é específico para T3. (Ver tabela de "Specificity".)

Bilirrubina: A presença de bilirrubina em concentrações até 200 mg/L não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Biotina: As amostras que contenham biotina a uma concentração de 1500 ng/ml demonstram uma alteração igual ou inferior a 10% nos resultados. Concentrações de biotina superiores a esta poderão originar resultados incorretos para as amostras de doentes.

Hemolise: A Presença de eritrocitos em concentrações até 30 µL/mL não tem efeito no resultado, dentro da precisão do ensaio.

Lipemia: A presença de triglicéridos em concentrações até 5000 mg/dL não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Tipo de amostra alternativa: Para determinar o efeito de amostras alternatives, foi colhido sangue de 25 voluntários em tubos secos, heparinizados e tubos de vacum SST da Becton Dickinson. A volumes iguais das mesmas amostras foram adicionadas várias concentrações de T3 total para obter valores ao longo da gama de calibração do ensaio. As amostras foram doseadas com o IMMULITE 2000 total T3.

(Heparina) = 1,06 (Soro) – 6,66 ng/dL
r = 0,993

(SST) = 1,06 (tubos simples) – 4,09 ng/dL
r = 0,994

Médias:
186 ng/dL (Heparina)
183 ng/dL (SST)
179 ng/dL (Soro)

Comparação de métodos: O doseamento foi comparado com o T3 Total IMMULITE em amostras de 340 doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 70 a 540 ng/dL. Ver gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 0,91 (IML) + 13,6 ng/dL
r = 0,987

Médias:
135 ng/dL (IMMULITE 2000)
133 ng/dL (IMMULITE)

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE is a trademark of Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2018 Siemens Healthcare Diagnostics. All rights reserved.

Made in: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

CE

2018-03-15

PIL2KT3 – 22

cc#EU23262, cc#EU23262A, cc#EU23343

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol Definition

IVD

En: *In vitro* diagnostic medical device
De: Medizinisches Gerät zur *in vitro* Diagnose
Es: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
Fr: Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
It: Dispositivo medico per diagnostica *in vitro*
Pt: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

REF

En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo

En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante

EC REP

En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia

CE

En: CE Mark
De: CE-Kennzeichen
Es: Marca CE
Fr: Marque CE
It: Marchio CE
Pt: Marca CE

CE 0088

En: CE Mark with identification number of notified body
De: CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle
Es: Marca CE con número de identificación del organismo notificado
Fr: Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié
It: Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato
Pt: Marca CE, com número de identificação do organismo notificado

Symbol Definition

En: Consult instructions for use
De: Bedienungshinweise beachten
Es: Consulte las instrucciones de uso
Fr: Consulter le mode d'emploi
It: Consultare le istruzioni per l'uso
Pt: Consulte as instruções de utilização

En: Caution! Potential Biohazard
De: Vorsicht! Biologisches Risikomaterial
Es: ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial
Fr: Avertissement ! Risque biologique potentiel
It: Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico
Pt: Atenção! Potenciais Riscos Biológicos

2°C 8°C

En: Temperature limitation (2–8°C)
De: Temperaturgrenze (2–8°C)
Es: Limitación de temperatura (2–8°C)
Fr: Limites de température (2–8°C)
It: Limiti di temperatura (2–8°C)
Pt: Limites de temperatura (2–8°C)

-20°C

En: Upper limit of temperature (≤ -20°C)
De: Obere Temperaturgrenze (≤ -20°C)
Es: Límite superior de temperatura (≤ -20°C)
Fr: Limite supérieure de température (≤ -20°C)
It: Limite superiore di temperatura (≤ -20°C)
Pt: Limite máximo de temperatura (≤ -20°C)

2°C

En: Lower limit of temperature (≥ 2°C)
De: Mindesttemperatur (≥ 2°C)
Es: Límite inferior de temperatura (≥ 2°C)
Fr: Limite inférieure de température (≥ 2°C)
It: Limite inferiore di temperatura (≥ 2°C)
Pt: Limite mínimo de temperatura (≥ 2°C)

Symbol Definition



En: Do not freeze (> 0°C)
De: Nicht einfrieren (> 0°C)
Es: No congelar (> 0°C)
Fr: Ne pas congeler (> 0°C)
It: Non congelare (> 0°C)
Pt: Não congelar (> 0°C)



En: Do not reuse
De: Nicht zur Wiederverwendung
Es: No reutilizar
Fr: Ne pas réutiliser
It: Non riutilizzare
Pt: Não reutilizar



En: Keep away from sunlight
De: Vor Sonneneinstrahlung schützen
Es: Proteger de la luz solar
Fr: Maintenir hors de portée de la lumière du soleil
It: Non esporre alla luce del sole
Pt: Manter afastado da luz solar

LOT

En: Batch code
De: Chargenbezeichnung
Es: Número de lote
Fr: Numéro de code du lot
It: Codice lotto
Pt: Código de lote



En: Contains sufficient for (n) tests
De: Es reicht für (n) Tests
Es: Contiene suficiente para (n) pruebas
Fr: Contient du matériel suffisant pour (n) tests
It: Contiene materiale sufficiente per (n) test
Pt: Contém o suficiente para (n) testes

2008-01

En: Date format (year-month)
De: Datumsformat (Jahr-Monat)
Es: Formato de fecha (año-mes)
Fr: Format de la date (année-mois)
It: Formato data (anno-mese)
Pt: Formato de data (ano-mês)



En: Use by
De: Verwendbar bis
Es: Fecha de caducidad
Fr: A utiliser avant
It: Usare entro
Pt: Usar até



En: Health Hazard
De: Gesundheitsgefährdung
Es: Peligro para la salud
Fr: Dangereux pour la santé
It: Pericolo per la salute
Pt: Perigo para a saúde

Symbol Definition



En: Exclamation Mark
De: Ausrufezeichen
Es: Signo de exclamación
Fr: Point d'exclamation
It: Punto esclamativo
Pt: Ponto de exclamação



En: Corrosion
De: Korrosion
Es: Corrosión
Fr: Corrosion
It: Corrosione
Pt: Corrosão



En: Skull and Crossbones
De: Totenkopf mit gekreuzten Knochen
Es: Calavera y tibias cruzadas
Fr: Tête de mort sur tibias croisés
It: Teschio e tibie incrociate
Pt: Caveira sobre tíbias cruzadas



En: Environment
De: Umwelt
Es: Medio ambiente
Fr: Environnement
It: Ambiente
Pt: Ambiente

BEAD PACK

En: Bead Pack
De: Kugel-Container
Es: Cartucho de bolas
Fr: Cartouche de billes
It: Contenitore di biglie
Pt: Embalagem de esferas

TEST UNIT

En: Test Unit
De: Testeinheit
Es: Unidades de análisis
Fr: Unité de test
It: Test Unit
Pt: Unidades de Teste

REAG WEDGE
REAG WEDGE A
REAG WEDGE B
REAG WEDGE D

En: Reagent Wedge
De: Reagenzbehälter
Es: Vial de reactivo
Fr: Cartouche à réactif
It: Porta Reagente
Pt: Embalagem de Reagente

ADJUSTOR

En: Adjustor
De: Kalibrator
Es: Ajustador
Fr: Ajusteur
It: Calibrator
Pt: Ajuste

Symbol	Definition
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL CONTROL 1 CONTROL 2 CONTROL 3	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo

Symbol	Definition
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol

Symbol	Definition
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

Total T4

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 Total T4

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the quantitative measurement of total circulating thyroxine (T4) in serum. Measurements of T4 are used in the diagnosis and treatment of thyroid disease.

Catalog Numbers:
L2KT42 (200 tests), **L2KT46** (600 tests)

Test Code: **TT4** Color: **Light Blue**

Summary and Explanation

Thyroxine (T4), the principal thyroid hormone, normally circulates at a level of approximately 4.5 to 12.5 µg/dL (58 to 161 nmol/L), largely bound to transport proteins, especially TBG. Given normal levels of thyroid hormone-binding proteins, hyperthyroidism is characterized by increased levels of circulating T4, hypothyroidism by decreased levels.

Exceptions to this parallelism between thyroid status and total T4 concentration are found, however, in patients with abnormal levels of thyroid-binding proteins. Levels of TBG are known to be altered under various physiological, pharmacological and genetic conditions. Thus, elevated T4 levels may be obtained when TBG levels are high, as in pregnancy, acute intermittent porphyria, hyperproteinemia, hereditary TBG elevation and in patients undergoing estrogen therapy or taking oral contraceptives. Total T4 levels may be depressed when TBG levels are low, as in nephrotic, hepatic, gastrointestinal and neoplastic disorders; in acromegaly, hypoproteinemia and hereditary TBG deficiency; and in patients undergoing androgen, testosterone or anabolic steroid therapy. Diphenylhydantoin and large doses of salicylates and liothyronine may also cause low T4 values (not reflective of thyroid status) due to their competition for binding sites on TBG.

Because the total T4 level is often abnormal in euthyroid subjects and because it may be normal in subjects with abnormal thyroid function, an estimate of the level of circulating TBG is desirable, as given for example by a T3 Uptake assay. In disorders of thyroid function, the total T4 and the T3 Uptake values will deviate from normal in the same direction, whereas in euthyroid patients with the TBG alterations they will deviate in opposite directions. The product of the T4 and the T3 Uptake values, divided by 100, is known as the Free Thyroxine Index (FT4I), a widely used indicator of thyroid status.

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 Total T4 is a solid-phase, competitive chemiluminescent enzyme immunoassay.

Incubation Cycles: 1 × 30 minutes

Specimen Collection

EDTA plasma should not be used as a sample type.

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 Total T4 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: 15 µL serum

Storage: 7 days at 2–8°C, or
2 months at –20°C.

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.



CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD
Contains human source material. Each donation of human blood or blood component was tested by FDA-approved methods for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) as well as for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis C virus (HCV). The test results were negative (not repeatedly reactive). No test offers complete assurance that these or other infectious agents are absent; this material should be handled using good laboratory practices and universal precautions.[13-15]

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.

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.

Total T4 Bead Pack (L2T412)
With barcode. 200 beads, coated with monoclonal murine anti-T4. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KT42: 1 pack **L2KT46:** 3 packs

Total T4 Reagent Wedge (L2T4A2)
With barcode. 21 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to T4, with preservative, dispensed equally into chambers A and B. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KT42: 1 wedge **L2KT46:** 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.

Total T4 Adjustors (LT4L, LT4H)
Two vials (Low and High), 2 mL each, of T4 in processed human serum, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KT42: 1 set **L2KT46:** 2 sets

Before making an adjustment, place the appropriate Aliquot Labels (supplied with the kit) on test tubes so that the barcodes can be read by the on-board reader.

Kit Components Supplied Separately

Multi-Diluent 1 (L2M1Z)
For the on-board dilution of high samples. One vial of concentrated (ready-to-use) processed, normal human serum, containing undetectable to low levels of total T4, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2M1Z: 25 mL

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.
L2M1Z: 3 labels

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate
L2PWSM: Probe Wash
L2KPM: Probe Cleaning Kit
LRXT: Reaction Tubes (disposable)
L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

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 Systems Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval: 2 weeks

Quality Control Samples: Follow government regulations or accreditation requirements for quality control frequency.

Use controls or serum pools with at least two levels (low and high) of T4.

Siemens Healthcare Diagnostics recommends the use of commercially available quality control materials with at least 2 levels (low and high). A satisfactory level of performance is achieved when the analyte values obtained are within the Acceptable Control Range for the system, or within an established range determined by an appropriate internal laboratory quality control scheme.

Expected Values

Adult: Based on its relationship to IMMULITE Total T4 (see Method Comparison), the assay can be expected to have essentially the same reference ranges for adults:

4.5–12.5 µg/dL (58–161 nmol/L)

Reference ranges were generated using serum samples collected in glass tubes without gel barriers or clot-promoting additives.

Pediatric: Reference intervals for the pediatric population (children and adolescents) were established for the IMMULITE Total T4 assay in accordance with CLSI guideline EP28-A3C.[16]

For analysis of data, the population was divided into three age subgroups:

- Infants: subjects aged 1–23 months
- Children: subjects aged 2–12 years
- Adolescents: subjects aged 13–20 years

A non-parametric approach was used to establish the reference intervals for children and adolescents where the 2.5 and 97.5 percentiles of the distribution of values were calculated. For the infant population, a robust measure of location and spread, as developed by Horn and Pesce, was used to estimate the 2.5 and the 97.5 percentile reference intervals, accommodating the smaller sample size.[16–18]

The reference intervals detailed by age group and number of samples are presented in the Reference Intervals table.

IMMULITE 2000 Total T4 Pediatric Reference Intervals

Age Group	*n*	Conventional (µg/dL)	SI (nmol/L)
Infants (1–23 Months)	82	6.2 – 11.8	80 – 152
Children (2–12 Years)	197	5.4 – 11.1	70 – 143
Adolescents (13–20 Years)	148	4.9 – 10.2	63 – 131

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

Limitations

Many physiological, pharmacological, pathological, and genetic factors affect the interpretation of total T4 results. (Refer to the Summary and Explanation section.)

More than 20% of patients with non-thyroidal disease who are critically ill have low serum T4 levels.

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 µg/dL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Conversion Factor:
µg/dL × 12.87 → nmol/L

Calibration Range: 1.0 to 24 µg/dL (13 to 309 nmol/L)

The assay is traceable to an internal standard manufactured using qualified materials and measurement procedures.

Analytical Sensitivity: 0.3 µg/dL (3.9 nmol/L)

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 T4 solutions (42, 90 and 150 µg/dL), were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody is highly specific for T4. (See "Specificity" table.)

Bilirubin: Presence of bilirubin in concentrations up to 200 mg/L has no effect on results, within the precision of the assay.

Biotin: Specimens that contain biotin at a concentration of 1500 ng/mL demonstrate a less than or equal to 10% change in results. Biotin concentrations greater than this may lead to incorrect results for patient samples.

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 5000 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 20 volunteers into plain, heparinized and Becton Dickinson SST® vacutainer tubes. Equal volumes of the matched samples were spiked with various concentrations of Total T4, to obtain values throughout the calibration range of the assay, and then assayed by the IMMULITE 2000 Total T4 procedure.

(Heparin) = 0.89 (Serum) + 0.61 µg/dL
r = 0.987

(SST) = 1.01 (Plain Tubes) + 0.42 µg/dL
r = 0.971

Means:
7.72 µg/dL (Serum)
7.51 µg/dL (Heparin)
8.21 µg/dL (SST)

Method Comparison: The assay was compared to IMMULITE Total T4 on 276 samples. (Concentration range: approximately 3 to 24 µg/dL. See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 0.93 (IML) + 0.56 µg/dL
r = 0.978

Means:
9.2 µg/dL (IMMULITE 2000)
9.3 µg/dL (IMMULITE)

References

1) Albertini A, Ekins RP, editors. Free hormones in blood. Amsterdam: Elsevier Biomedical Press, 1982. 2) Britton KE, Quinn V, Brown BL, Ekins RP. A strategy for thyroid function tests. Br Med J 1975; iii:350–2. 3) Ekins RP, editor. Free thyroid hormones. Amsterdam: Excerpta Medica, 1979. 4) Gershengorn MC, Glinoer D, Robbins J. Transport and metabolism of thyroid hormones. In: Visscher M De, editor. The thyroid gland. New York: Raven Press, 1980: 81–121. 5) Prince HP, Ramsden DB. A new theoretical description of the binding of thyroid hormones by serum proteins. Clin Endocrinol 1977;7:307–24. 6) Refetoff S. Thyroid hormone transport. In: DeGroot LJ, editor. Endocrinology. Philadelphia: Grune and Stratton, 1979;1:347–56. 7) Refetoff S. Thyroid function tests. In: DeGroot LJ, editor. Endocrinology, Philadelphia: Grune and Stratton, 1979;1:387–428. 8) Robbins J, Johnson ml. Theoretical considerations in the transport of thyroid hormones in blood. In: Ekins RP, editor. Free thyroid hormones. Amsterdam: Excerpta Medica, 1979: 1–16. 9) Robbins J, Rall JE. The iodine-containing hormones. In: Gray CH, James VHT, editors. Hormones in blood. London: Academic Press, 1979: 575–688. 10) Slag MF, Morley JE, Elson MK, et al. Hypothyroxinemia in critically ill patients as a predictor of high mortality. JAMA 1981;245: 43–5. 11) Walfish PG. Thyroid physiology and

pathology. In: Collu R Jr, Ducharme H, Guyda, editors. Pediatric endocrinology. New York: Raven Press, 1981: 357–31. 12)Wenzel KW. Pharmacological interference with *in vitro* tests of thyroid function. Metabolism 1981;30:717–32. 13) Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. MMWR, 1988;37:377–82, 387–8. 14) Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3. 15) Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030. 16) Clinical and Laboratory Standards Institute. *Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Third Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010. CLSI Guideline EP28-A3C. 17) Horn PS, Pesce AJ, Reference Intervals. A User's Guide, Washington, DC:AACC Press; 2005. 18) Reed AH, Henry RJ, Mason WB. Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. 1971; 17:275-284.

Technical Assistance

In the United States, contact Siemens Healthcare Diagnostics Technical Services department. Tel: 877.229.3711. Outside the United States, contact your National Distributor.

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

Precision (µg/dL)

		Within-Run[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	1.8	0.20	11.1%	0.21	11.7%
2	2.6	0.23	8.9%	0.28	10.8%
3	5.2	0.32	6.2%	0.44	8.5%
4	7.0	0.37	5.3%	0.43	6.1%
5	8.2	0.38	4.6%	0.46	5.6%
6	13	0.60	4.6%	0.78	6.0%
7	16	0.74	4.6%	0.89	5.6%

Recovery (µg/dL)

	Solution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	—	2.7	—	—
	A	5.1	4.7	109%
	B	7.8	7.1	110%
	C	8.5	10.1	84%
2	—	5.5	—	—
	A	8.3	7.3	114%
	B	10.2	9.7	105%
	C	13	13	100%
3	—	7.8	—	—
	A	11	9.5	116%
	B	12	12	100%
	C	14	15	93%

Linearity (µg/dL)

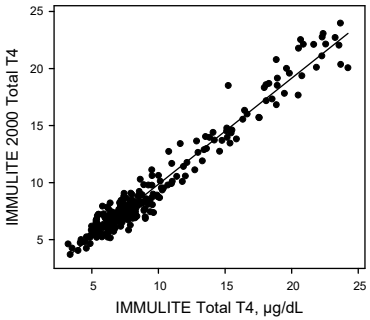
	Dilution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	8 in 8[5]	8.9	—	—
	4 in 8	4.2	4.5	93%
	2 in 8	2.0	2.3	87%
	1 in 8	1.1	1.1	100%
2	8 in 8	9.6	—	—
	4 in 8	4.9	4.8	102%
	2 in 8	2.7	2.4	113%
	1 in 8	1.4	1.2	117%
3	8 in 8	10.6	—	—
	4 in 8	5.6	5.3	106%
	2 in 8	2.7	2.7	100%
	1 in 8	1.5	1.3	115%
4	8 in 8	11.4	—	—
	4 in 8	5.7	5.7	100%
	2 in 8	2.7	2.9	93%
	1 in 8	1.5	1.4	107%

Specificity (µg/dL)

Compound[1]	Amount Added[2]	% Cross reactivity[3]
L-Thyroxine (T4)	—	100%
D-Thyroxine	10	74%
Tetraiodothyroacetic acid	10	50%
Triiodo-L-thyronine (T3)	25	1.7%
Reverse T3	25	ND
Triiodo-D-thyronine	1	ND
Triiodothyroacetic acid	500 10	1.6% ND
Monoiodotyrosine	1000	ND
Diiodo-L-tyrosine	1000	ND
Methimazole	1000	ND
5,5'-Diphenylhydantoin	1000	ND
Phenylbutazone	1000	ND
6-*n*-Propyl-2-thiouracil	1000	ND

ND: Not detectable.[4]

Method Comparison



(IML 2000) = 0.93 (IML) + 0.56 µg/dL
r = 0.978

Deutsch. **Precision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]S (Standardabweichung), [5]CV (Variationskoeffizient). **Linearity**: [1]Verdünnung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Lösung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E. **Specificity**: [1]Verbindung, [2]zugesetzte Menge, [3]% Kreuzreaktivität, [4]NN: Nicht nachweisbar. **Method Comparison.** Total T4: Gesamt-T4.

Español. **Precision**: [1] Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV. **Linearity**: [1] Dilución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 en 8. **Recovery**: [1] Solución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Specificity**: [1]Compuesto, [2] Cantidad añadida, [3]% Reacción cruzada, [4]ND: no detectable. **Method**, [3]% Reacción cruzada, [4]ND: no detectable. **Method Comparison.** Total T4: T4 Total.

Français. **Precision:** [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]SD, [5]CV. **Linearity:** [1]Dilution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A, [5]8 dans 8. **Recovery:** [1]Solution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A. **Specificity:** [1]Composé, [2]ajouté, [3]Réaction croissée%, [4]ND: non détectable. **Method Comparison:** Total T4: T4 Totale.

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity**: [1]Diluizione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Soluzione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A. **Specificity**: [1]Composto, [2]quantità aggiunta, [3]Percentuale di Crossreattività, [4]ND: non determinabile. **Method Comparison.** Total T4: T4 Totale

Português. **Precision**: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação. **Linearity**: [1]Diluição, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 em 8. **Recovery**: [1]Solução, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Specificity**: [1]Composto, [2]Quantidade adicionada, [3]Percentagem de reacção cruzada, [4]ND: não detectável. **Method Comparison.** Total T4: T4 Total.

Deutsch

Gesamt T4

Anwendung: *In-vitro*-Diagnostikum zur quantitativen Messung vom zirkulierenden Gesamthyroxin (T4) im Serum unter Verwendung der IMMULITE® 2000 Analysesysteme. Messungen des T4 erfolgen zur Diagnose und Behandlung von Schilddrüsenerkrankungen.

Artikelnummern:
L2KT42 (200 tests), **L2KT46** (600 tests)

Testcode: **TT4** Farbe: **hellblau**

Klinische Relevanz

Thyroxin (T4), daß hauptsächlich von der Schilddrüse gebildete Hormon, zirkuliert im Blut, im wesentlichen gebunden an Trägerproteine (hauptsächlich TBG) in einem Konzentrationsbereich von 4,5 bis 12,5 µg/dl (58 bis 161 nmol/l). Normale TBG-Spiegel voraussgesetzt, ist ein Hyperthyreoidismus durch erhöhte, ein Hypothyreoidismus durch erniedrigte T4- Spiegel charakterisiert.

Ausnahmen von dieser Regel liegen bei Patienten mit nichtnormalem TBG vor. Es ist bekannt, daß die TBG-Spiegel unter verschiedenen physiologischen, pharmakologischen und genetischen Bedingungen schwanken können. Auf diese Weise treten erhöhte T4- Werte bei gleichzeitig erhöhten TBG-Werten bei Schwangeren, Patienten mit akuter intermittierender Porphyrie, Hyperproteinämie, hereditärer TBG-Erhöhung, sowie unter Östrogentherapie und Einnahme oraler Kontrazeptiva auf. Im Gegensatz dazu können erniedrigte T4-Werte und gleichzeitig niedrige TBG-Werte bei Patienten mit Nieren-, Leber-, Magen- Darm- und neoplastischen Erkrankungen, Akromegalie, Hypoproteinämie, hereditärem TBG-Mangel, sowie Patienten unter Androgen-, Testosteron- oder Steroidtherapie auftreten. Dophenylhydantoin (Phenytoin) und hohe Dosen von Salicylaten und Liothyronin können durch ihre Bindung an das TBG ebenfalls zu erniedrigten T4-Werten führen, die jedoch den tatsächlichen Schilddrüsenstatus nicht widerspiegeln.

Da der Gesamt T4- Spiegel bei euthyreoten Patienten abnormal verändert sein kann und im Gegensatz dazu bei Patienten mit pathologischem Schilddrüsenstatus normale T4-Spiegel auftreten können, ist die zusätzliche Bestimmung des zirkulierenden TBG, z.B. mittels eines T3 Uptake - Assays wünschenswert. Bei Schilddrüsenerkrankungen weichen der Gesamt T4-Spiegel und der ermittelte T-Uptake gleichsinnig ab, während sich bei euthyreoten Patienten mit TBG-Alteration der Gesamt T4 - Wert und der T3 uptake gegenläufig verhalten. Das Produkt aus beiden Werten geteilt durch 100 ist definiert als Freier Thyroxin Index (FT4I). Dieser Index wird als Indikator zur Beurteilung des Schilddrüsenstatus verwendet.

Methodik

Der Gesamt T4 – IMMULITE 2000-Test ist ein kompetitiver Festphasen-, Chemilumineszenz-Immunoassay.

Inkubationszyklen: 1 × 30 Minuten

Probengewinnung

EDTA-Plasma ist als Probenart nicht geeignet.

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 Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln 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 Gesamt T4 sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 15 µl Serum

Lagerung: 7 Tage bei 2–8°C oder 2 Monate bei –20°C.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *in vitro*-Diagnostik.



VORSICHT! BIOLOGISCHES RISIKOMATERIAL
Enthält Material humanen Ursprungs. Alle Blutspenden oder Blutkomponenten menschlicher Herkunft wurden nach FDA-genehmigten Methoden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die HI-Viren Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2) sowie von Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und Antikörpern gegen den Hepatitis C-Virus (HCV) getestet. Die Testergebnisse waren negativ (nicht wiederholt reaktiv). Durch keinen Test kann das Vorhandensein dieser oder anderer infektiöser Stoffe vollständig ausgeschlossen werden. Dieses Material ist mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und gemäß der allgemein anerkannten guten Laborpraxis zu handhaben.[13-15]

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.

Reagenzien: Bei 2–8°C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Bestimmten Komponenten wurde Natriumazid (< 0,1 g/dl) hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu verhindern, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

Chemilumineszenz–Substratmodul: Kontamination und direkte Sonneneinstrahlung vermeiden. (Siehe Packungsbeilage.)

Wasser: Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser benutzen.

Im Lieferumfang enthalten

Die Bestandteile sind aufeinander abgestimmt. Die Aufkleber auf der Innenverpackung werden zur Testdurchführung gebraucht.

Gesamt T4 Kugel-Container (L2T412)
Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit T4-Antikörpern (monoklonal, Maus). Gekühlt (2–8°C) haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum.

L2KT42: 1 Container **L2KT46:** 3 Container

Gesamt T4-Reagenzbehälter (L2T4A2)
Der barcodierte Reagenz-Container enthält 21 ml alkalische Phospatase (Kalb) konjugiert mit T4, mit Konservierungsmittel, zu gleichen Mengen in den Kammern A und B. Gekühlt (2–8°C) haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum.

L2KT42: 1 Behälter **L2KT46:** 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.

Gesamt T4 Kalibratoren (LT4L, LT4H)
Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) jeweils mit 2 ml T4 in behandeltem humanem Serum, mit Konservierungsmittel. Nach Rekonstituierung 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KT42: 1 Set **L2KT46:** 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

Multiverdünnung 1 (L2M1Z)
Zur on-board Verdünnzung von Proben hoher Konzentration. Ein Fläschchen konzentriertes (gebrauchsfertig) prozessiertes, normales Humanserum, mit nicht-nachweisbarem Gehalt an Gesamt T4, mit Konservierungsmittel. Lagerung: 30 Tage (nach Öffnen) bei 2–8°C oder 6 Monate (ungeteilt) bei –20°C (aliquotiert).
L2M1Z: 25 ml

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2M1Z: 3 Etiketten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: (Wegwerf-) Reaktionsgefäße
L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm) für die Probenverdünnung
L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Röhrchen; Kontrollen

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Verdünnung, Kalibration, Test- und Qualitätskontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
2 Wochen

Qualitätskontrollseren: Jeweils gültige gesetzlichen Bestimmungen oder Akkreditierungsanforderungen sind bei der Festlegung der Intervalle zur Durchführung der Qualitätskontrollen zu berücksichtigen.

Kontrollen oder Seren mit T4 in zumindest zwei Konzentrationen (niedrige und hohe) verwenden.

Siemens Healthcare Diagnostics empfiehlt die Verwendung von kommerziell verfügbaren Qualitätskontrollen in mindestens 2 Konzentrationen (niedrig und hoch). Der Systembetrieb gilt dann als zufriedenstellend, wenn die Analytwerte innerhalb des für das System zulässigen Kontrollbereichs oder des für die laborinternen Qualitätskontrollverfahren festgelegten zulässigen Bereichs liegen.

Referenzwerte

Erwachsene: Basierend auf der Korrelation zum IMMULITE-Gesamt-T4 (siehe *Methodenvergleich*), wurden folgende Referenzbereiche ermittelt:

4,5–12,5 µg/dl (58–161 nmol/l)

Die Referenzwerte wurden aus Serumproben in Glassröhrchen ohne Gelbarrieren und gerinnungsfördernde Zusätze bestimmt.

Kinder: Die pädiatrischen Referenzbereiche (Kinder und Jugendliche) wurden in Übereinstimmung mit der CLSI-Richtlinie EP28-A3C für den IMMULITE Gesamt T4 Test festgelegt.[16]

Für die Datenanalyse wurde die Population nach Alter in drei Untergruppen eingeteilt:

- Kleinkinder: Probanden im Alter von 1–23 Monaten
- Kinder: Probanden im Alter von 2–12 Jahren
- Jugendliche: Probanden im Alter von 13–20 Jahren

Die Referenzbereiche für Kinder und Jugendliche wurden mit Hilfe einer nonparametrischen Methode ermittelt, wobei die 2,5. und 97,5. Perzentilen der Werteverteilung berechnet wurden. In der Kleinkinderpopulation wurde zur Berücksichtigung der geringeren Probenanzahl der Stichprobe eine robuste, von Horn und Pesce entwickelte Methode zur Ermittlung des Referenzintervalls und der 2,5. und 97,5. Perzentilen verwendet.[16–18]

Die nach Altersgruppe und Anzahl der Proben aufgeschlüsselten Referenzbereiche sind in der Tabelle „Referenzbereiche“ dargestellt.

Pädiatrische Referenzbereiche für IMMULITE 2000 Gesamt T4

Altersgruppe	*n*	Konventionell (µg/dl)	SI (nmol/l)
Kleinkinder (1–23 Monate)	82	6,2–11,8	80–152
Kinder (2–12 Jahre)	197	5,4–11,1	70–143
Jugendliche (13–20 Jahre)	148	4,9–10,2	63–131

Betrachten Sie diese Grenzwerte nur als *Richtlinien*. Jedes Labor sollte eigene Referenzbereiche ermitteln.

Grenzen der Methode

Zahlreiche physiologische, pharmakologische, pathologische und genetische Faktoren beeinflussen die Interpretation der Gesamt-T4-Ergebnisse. *(Details finden Sie im Abschnitt „Klinische Relevanz“).*

Mehr als 20 % kritisch kranke Patienten mit nichtthyreoidaler Krankheit haben niedrige Serumgesamt-T4-Spiegel.

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 in µg/dl angegeben. (Sofern nicht anders angegeben, wurden hierfür Serumproben in Röhrchen ohne Geltrennung und Gerinnungshilfen eingesetzt.)

Umrechnungsfaktor:
µg/dl × 12,87 → nmol/l

Messbereich: 1,0–24 µg/dl (13–309 nmol/l)

Die Methode ist rückführbar auf einen internen Standard, der mittels qualifizierter Materialien und Messmethoden hergestellt wurde.

Analytische Sensitivität: 0,3 µg/dl (3,9 nmol/l)

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Test-ansätzen in Doppelbestimmung gemessen (insgesamt 40 Bestimmungen und 80 Einzelmessungen). (Siehe Tabelle ”Precision”.)

Linearität: Proben wurden in verschiedenen Verdünnungen getestet. (Siehe Tabelle ”Linearity” für representative Daten.)

Wiederfindung: Proben wurden mit drei Lösungen (42, 90 und 150 µg/dl) im Verhältnis von 1:19 versetzt. (Siehe Tabelle ”Recovery” für representative Daten.)

Spezifität: Der Assay ist hochspezifisch für T4. (Siehe Tabelle ”Specificity”.)

Bilirubin: Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Biotin: Proben, die Biotin in einer Konzentration von 1500 ng/ml enthalten, zeigen eine Veränderung der Ergebnisse von kleiner oder gleich 10 %. Größere Biotin-Konzentrationen als diese können zu falschen Ergebnissen bei Patientenproben führen.

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 haben in Konzentrationen bis zu 5000 mg/dl keinen

Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Alternativer Probentyp: Um die Auswirkungen von verschiedenen Probenarten zu untersuchen, wurde Blut von 20 Freiwilligen in Röhrchen ohne Additiva, in Heparin und Becton Dickinson SST® Vacutainer-Rörchen gesammelt. Gleiche Volumina der jeweiligen Proben wurden mit verschiedenen Konzentratonen an T4 versetzt, um Werte im gesamten Kalibrationsbereich zu erhalten, und die Proben anschließend mit dem IMMULITE 2000 Assay für T4 gemessen.

(Heparin) = 0,89 (Serum) + 0,61 µg/dl
r = 0,987

(SST) = 1,01 (einfachen Röhrchen) + 0,42 µg/dl
r = 0,971

Mittelwert:
7,72 µg/dl (Serum)
7,51 µg/dl (Heparin)
8,21 µg/dl (SST)

Methodenvergleich: Der Assay wurde auf der Basis von 276 Patientenproben mit dem IMMULITE Gesamt T4 Assay verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 3 bis 24 µg/dl. Siehe Grafik.) Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 0,93 (IML) + 0,56 µg/dl
r = 0,978

Mittelwert:
9,2 µg/dl (IMMULITE 2000)
9,3 µg/dl (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

T4 Total

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro*, utilizado con los analizadores IMMULITE® 2000 — para la medición cuantitativa de tiroxina total circulante (T4) en suero. Las mediciones de T4 se utilizan como ayuda en el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad tiroidea.

Números de Catálogo:
L2KT42 (200 tests), **L2KT46** (600 tests)

Código del Test: **TT4**
Color: **Azul claro**

Resumen y Explicación del Test

La Tiroxina (T4), la principal hormona tiroidea, normalmente circula a niveles de aproximadamente 4,5 a 12,5 µg/dl (58 a 161 nmol/l), la mayoría unida a proteinas transportadoras, expecialmente la TBG. A valores normales de proteinas transportadora de tiroides, el hipertiroidismo se caracteriza por un incremento en los valores séricos de T4 y el hipotiroidismo por una disminución de los mismos.

Se pueden encontrar excepciones a este paralelismo entre estado tiroideo y concentración de T4, en pacientes con niveles anormales de proteinas transportadoras de tiroides. Se conoce que los niveles de TBG están alterados bajo distintos factores fisiológicos, farmacológicos y genéticos. Así, niveles elevados de T4 pueden estar asociados a niveles elevados de TBG, como en el embarazo, la porfiria intermitente aguda, hiperproteinemia, TBG elevada hereditaria y en pacientes con terapia estrogénica o que tomen anticonceptivos orales. Los niveles de T4 pueden estar deprimidos cuando los niveles de TBG son bajos, como en síndromes nefrótico, hepático, gastrointestinal y neoplásico; en acromegalia, hipoproteinemia y TBG disminuida hereditaria; y en pacientes con terapia androgénica, con testosterona o anabolizantes. Difenilhidantoina y grandes dosis de salicilatos y liotironina pueden provocar una bajada de los niveles de T4 (no reflejado en el estado tiroideo) debido a su competencia por los sitios de unión en la TBG.

Debido a que los niveles de T4 Total son frecuentemente anormales en sujetos eutiroideos y pueden ser normales en pacientes con enfermedad tiroidea, se recomienda calcular los niveles de TBG sérica, como por ejemplo mediante un test de “T3 Uptake”. En patologías tiroideas, los valores de T4 total y de T3 Uptake se desviarán del rango normal en la misma

dirección, mientras que en los pacientes eutiroideos con alteraciones de la TBG esta desviación será en dirección opuesta. El producto de los valores de T4 and the T3 Uptake, dividido por 100, se conoce como Indice de Tiroxina Libre (FT4I), un indicasdor del estado tiroideo ampliamente utilizado.

Principio del Test

El IMMULITE 2000 T4 Total es un inmunoensayo enzimático quimioluminiscente competitivo en fase sólida.

Ciclos de incubación: 1 × 30 minutos

Recogida de la muestra

El plasma con EDTA no deberia ser usado como 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 centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El T4 Total 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: 15 µl de suero

Conservación: 7 días a 2–8°C, o 2 meses a –20°C.

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

¡PRECAUCIÓN! RIESGO BIOLÓGICO POTENCIAL
Contiene material de origen humano. Cada donación de sangre humana o componente sanguíneo ha sido probada por métodos aprobados por la FDA con el fin de detectar la presencia de anticuerpos de los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2), así como el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y el anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (VHC). Los resultados de estas pruebas fueron negativos (no repetidamente reactivos). Ninguna prueba ofrece total garantía de que en las muestras no haya estos agentes infecciosos u otros; por tanto, este material se deberá manipular conforme a las prácticas recomendables de laboratorio y las precauciones universales[13-15].

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.

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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las canerias de cobre y plomo.

Substrato quimioluminiscente: Evitar la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

Agua: Usar agua destilada o desionizada.

Materiales Suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

Cartucho de bolas de T4 Total (L2T412)
Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpo monoclonal murino anti-T4. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KT42: 1 cartucho **L2KT46:** 3 cartuchos

Vial de reactivo de T4 Total (L2T4A2)
Con códigos de barras. 21 ml de fosfatasa alcalina (de intestino de ternera), conjugado con T4, con conservante, repartido a partes iguales en las cámaras A y B. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KT42: 1 vial **L2KT46:** 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 T4 Total (LT4L, LT4H)
Dos viales (bajo y alto), cada uno con 2,0 ml de T4 en suero humano procesado, con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KT42: 1 juego **L2KT46:** 2 juegos

Antes de hacer un ajuste, colocar las etiquetas a las alícuotas apropiadas (suministradas con el kit) sobre tubos de ensayo, de forma tal que los códigos de barras puedan ser leídos por el lector.

Componentes del kit que se suministran por separado

Multidiluyente 1 (L2M1Z)
Para la dilución de muestras de alta concentración dentro del equipo. Un vial de un concentrado de suero humano normal (listo para su uso) con niveles indetectables de T4 total, con conservante. 30 días (después de su apertura) a 2–8°C o 6 meses (alicuotado) a –20°C.
L2M1Z: 25 ml

Se suministran etiquetas con códigos de barras para usarse con este diluyente. Antes de uso, colocar la etiqueta con el código de barras en un tubo de ensayo de 16 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2M1Z: 3 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 × 100 mm)
L2ZC: 250 Casquillos del tubo del diluyente de la muestra

También necesarios
Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles.

Ensayo

Aviso: para obtener un funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para: la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:
2 semanas

Muestras de Control de Calidad: Seguir las reglamentaciones gubernamentales o los requisitos de acreditación para conocer la frecuencia de control de calidad.

Utilizar controles o pooles de sueros con al menos dos niveles diferentes de T4 total (bajo y alto).

Siemens Healthcare Diagnostics recomienda el uso de materiales de control de calidad comercializados con al menos 2 niveles (bajo y alto). Un nivel de funcionamiento satisfactorio se consigue cuando los valores obtenidos del analito están dentro del rango de control aceptable para el sistema, o dentro del rango establecido determinado por un programa adecuado de control de calidad interno de laboratorio.

Valores Esperados

Adultos: Basado en su relación con el IMMULITE T4 Total (ver Método de Comparación), se puede esperar que el ensayo tenga esencialmente el mismo rango de referencia para los adultos:

4,5–12,5 µg/dl (58–161 nmol/l)

Los rangos de referencia han sido generados utilizando muestras de suero recogidas en tubos de cristal sin barreras de gel ni aditivos promotores de la coagulación.

Niños: Los intervalos de referencia de la población pediátrica (niños y adolescentes) para el ensayo IMMULITE T4 Total se establecieron de acuerdo con el documento EP28-A3C del CLSI[16].

La población se dividió en tres subgrupos de edad para analizar los datos:

- Lactantes: sujetos de 1–23 meses de edad
- Niños: sujetos de 2–12 años de edad
- Adolescentes: sujetos de 13–20 años de edad

Se usó un abordaje no paramétrico para establecer los intervalos de referencia para niños y adolescentes, de los que se calcularon los percentiles 2,5 y 97,5 de distribución de los valores. Para la población de lactantes, Horn y Pesce desarrollaron una medida sólida de la localización y expansión que se usó para calcular los intervalos de referencia de los percentiles 2,5 y 97,5, lo que permite incluir el tamaño de muestra más pequeño[16–18].

Los intervalos de referencia detallados por grupo de edad y número de muestras se presentan en la tabla Intervalos de referencia.

Intervalos de referencia de IMMULITE 2000 T4 Total para la población pediátrica

Grupo de edad	*n*	Convencional (µg/dl)	SI (nmol/l)
Lactantes (1–23 meses)	82	6,2–11,8	80–152
Niños (2–12 años)	197	5,4–11,1	70–143
Adolescentes (13–20 años)	148	4,9–10,2	63–131

Estos límites han de considerarse sólo como una *guía*. Cada Laboratorio deberá establecer sus propios rangos de referencia.

Limitaciones

Muchos factores fisiológicos, farmacológicos, patológicos y genéticos afectan la interpretación de los resultados de T4 total. (Refiérase a la sección de Resumen y Explicación.)

Más del 20% de los pacientes con enfermedad no tiroidea que están críticamente enfermos tienen bajos niveles de T4 total en suero.

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis *in vitro*. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasione un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia, no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

Características Analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo ver las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en µg/dl. (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:
µg/dl × 12,87 → nmol/l

Rango de Calibración: 1,0 a 24 µg/dl (13 a 309 nmol/l)

El ensayo es trazable a un estándar interno fabricado usando procedimientos de medida y materiales cualificados.

Sensibilidad: 0,3 µg/dl (3,9 nmol/l)

Precisión: Las muestras fueron analizadas por duplicado durante 20 días, en dos tandas de trabajo por día, para un total de 40 tandas y 80 replicados. (Ver la tabla de “Precision”.)

Linealidad: Las muestras fueron analizadas en varias diluciones. (Ver la tabla de “Linearity” para resultados representativos.)

Recuperación: Se analizaron muestras sobrecargadas 1 en 19 con tres soluciones (42, 90 y 150 µg/dl). (Ver la tabla de “Recovery” para resultados representativos.)

Especificidad: El ensayo es altamente específico para T4. (Ver la tabla de “Specificity”.)

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Biotina: Las muestras que contienen biotina en una concentración de 1500 ng/ml han demostrado un cambio igual o inferior al 10% en los resultados. Una concentración de biotina superior a esta puede producir resultados incorrectos para las muestras del paciente.

Hemólisis: 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 5000 mg/dl no tiene efecto alguno en los resultados, en lo correspondiente a la precisión del ensayo.

Tipo de Muestra Alternativa: para evaluar el efecto de los diferentes tipos de muestras alternativos, se recogió sangre de 20 voluntarios en tubos normales, tubos con Heparina, tubos y tubos vacutainer SST® de Becton Dickinson. Volúmenes iguales de las diferentes muestras fueron sobrecargadas con diferentes concentraciones de T4 Total, con la finalidad de cubrir todo el rango de calibración del ensayo, y procesadas con el procedimiento T4 Total IMMULITE 2000.

(Heparina) = 0,89 (Suero) + 0,61 µg/dl
r = 0,987

(SST) = 1,01 (tubos simples) + 0,42 µg/dl
r = 0,971

Medias:
7,72 µg/dl (Suero)
7,51 µg/dl (Heparina)
8,21 µg/dl (SST)

Comparación del Método: El ensayo fue comparado con el IMMULITE T4 Total en 276 muestras de pacientes. (Rango de Concentración: aproximadamente 3 a 24 µg/dl. Véase el gráfico.) Por regresión linear:

(IML 2000) = 0,93 (IML) + 0,56 µg/dl
r = 0,978

Medias:
9,2 µg/dl (IMMULITE 2000)
9,3 µg/dl (IMMULITE)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

Immulite 2000 T4 Totale

Domaine d'utilisation : Pour utilisation diagnostique *in vitro* avec les analyseurs des systèmes IMMULITE® 2000 — pour la détermination quantitative de la thyroxine totale circulante (T4) dans le sérum. Le dosage de T4 est utilisé dans le diagnostic et le traitement des maladies thyroïdiennes.

Référence catalogue :
L2KT42 (200 tests), **L2KT46** (600 tests)

Code produit : **TT4**
Code couleur : **bleu clair**

Introduction

La thyroxine (T4), principale hormone thyroïdienne, se trouve dans les conditions normales à une concentration d'environ 4,5 à 12,5 µg/dl (58 à 161 nmol/l), principalement sous forme liée à des protéines de transport, essentiellement à la TBG. Sans perturbation du taux des protéines de transport, l'hyperthyroïdie se caractérise par des concentrations élevées de T4 circulante, l'hypothyroïdie par des concentrations de T4 diminuées.

En-dehors des variations dues à l'état thyroïdien, les taux de T4 peuvent augmenter ou diminuer, parallèlement aux concentrations des protéines porteuses comme la TBG. Ainsi, des taux élevés de T4 peuvent être retrouvés quand les taux de TBG sont augmentés : en cas de grossesse, lors d'une porphyrie aiguë, d'une hyperprotéinémie, d'une élévation héréditaire du taux de TBG, de patients sous traitement oestrogénique ou sous contraception orale. A l'inverse, des taux bas de T4 peuvent être observés quand les taux de TBG sont abaissés : en cas d'insuffisance rénale, lors de pathologies hépatiques, gastro-intestinales ou néoplasiques ; dans des cas d'acromégalie, d'hypoprotéinémie et de déficience héréditaire en TBG et pour des patients sous traitement à base d'androgène, de testostérone ou de stéroïdes anabolisants. La dyphénylhydantoïne, de fortes doses de salicylates et de L-Tyroxine peuvent également être à l'origine des valeurs basses en T4 en raison de leur compétition pour la fixation sur les sites de liaison de la TBG. Cette diminution de T4 n'a aucun rapport avec le fonctionnement thyroïdien.

Puisque le dosage de la T4 totale est dépendant de la concentration en protéines porteuses, il est conseillé de pratiquer un dosage de T-Uptake pour vérifier la capacité de liaison des hormones thyroïdiennes. Des valeurs anormalement basses ou élevées peuvent être trouvées en T4, sans contexte thyroïdien pathologique. Dans le cas d'un dysfonctionnement thyroïdien, les valeurs de T4 totale et de Tuptake varieront dans le même sens par rapport à la normale, par contre chez des patients euthyroïdiens, les variations iront dans le sens opposé. Un Index de Thyroxine libre (ITL) est couramment calculé en multipliant la concentration de T4 par la valeur de T-Uptake et en divisant par 100.

Principe du test

IMMULITE 2000 T4 Totale est une immunoenzymologie chimioluminescente compétitive à phase solide.

Cycles d'incubation : 1 × 30 minutes

Recueil des échantillons

Les echantillons ne doivent pas etre des plasmas EDTA.

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 dûs 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 T4 Totale 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 : 15 µl de sérum

Conditions de conservation : 7 jours à 2–8°C ou 2 mois à –20°C.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.



AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL
Contient du matériel d'origine humaine. Chaque don de sang ou de composant sanguin humain a été testé selon des méthodes homologuées par la FDA afin de détecter la présence d'anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2), ainsi que la présence d'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) et d'anticorps anti-virus de l'hépatite C (VHC). Les résultats de ces tests se sont révélés négatifs (ou positifs mais de façon non répétable). Aucun test ne peut garantir totalement l'absence d'agents infectieux tels que ceux-ci ou d'autres. Par conséquent, ce matériel doit être manipulé conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux précautions universelles.[13-15]

AVERTISSEMENT : Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.

Réactifs : conserver les réactifs à 2–8°C. Eliminer les déchets conformément à la réglementation en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-HCV et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

Substrat chimiluminescent : éviter la contamination et l'exposition directe au soleil. (Voir notice).

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 T4 Totale (L2T412)
Avec code-barres. 200 billes revêtues d'un anticorps monoclonal murin anti-T4. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.

L2KT42 : 1 cartouche
L2KT46 : 3 cartouches

Cartouche-Réactif T4 Totale (L2T4A2)
Avec code-barres. 21 ml d'un réactif composé de T4 marquée à la phosphatase alcaline (provenant des intestins de veau), avec conservateur, distribué à volume égal dans les compartiments A et B. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.

L2KT42 : 1 cartouche
L2KT46 : 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 T4 Totale (LT4L, LT4H)
2 flacons d'ajusteurs (« haut » et « bas ») de 2 ml chacun, contenant de la T4 dans une sérum humain prétraité, avec conservateur. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KT42 : 1 jeu **L2KT46 :** 2 jeux

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

Composants du coffret fournis séparément

Multi-Diluant 1 (L2M1Z)
Pour la dilution à bord des échantillons de concentration élevée. Un flacon de solution concentrée (prête à l'emploi) Contenant du sérum humain exempt de T4 Totale, avec conservateur. Stockage : 30 jours (après ouverture) à 2–8°C ou 6 mois (aliquote) à –20°C
L2M1Z : 25 ml

Les étiquttes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 × 100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2M1Z : 3 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

Egalement requis
Eau distillée ou désionisée ; tubes en verre ; contrôles

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000.

Voir le Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000 pour la préparation, le démarrage du système, la dilution, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé :
2 semaines

Echantillons pour le contrôle de qualité :
Suivre les réglementations gouvernementales et les exigences relatives aux accréditations en matière de fréquence de contrôle qualité.

Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) de T4 totale.

Siemens Healthcare Diagnostics recommande d'utiliser des échantillons de contrôle de qualité en vente dans le commerce et comprenant au moins 2 niveaux (bas et haut). Un niveau de performance satisfaisant est atteint lorsque les valeurs d'analyte obtenues se situent dans l'intervalle de contrôle acceptable du système ou dans un intervalle déterminé par un schéma de contrôle de qualité approprié interne au laboratoire.

Valeurs attendues

Échantillons adultes : Compte tenu de sa relation avec le test IMMULITE T4 Totale (voir méthode de comparaison), le test doit avoir les mêmes valeurs de référence pour les adultes :

4,5–12,5 µg/dl (58–161 nmol/l)

Les valeurs de référence ont été obtenues en utilisant des sérums prélevés sur tubes en verre sans gel ni activateurs de la coagulation.

Échantillons pédiatriques : Les intervalles de référence pour la population pédiatrique (enfants et adolescents) ont été établis pour le dosage IMMULITE T4 Totale, conformément à la directive EP28-A3C du CLSI.[16]

Pour l'analyse des données, la population a été divisée en trois sous-groupes d'âges :

- Nourrissons : sujets de 1–23 mois
- Enfants : sujets de 2–12 ans
- Adolescents : sujets de 13–20 ans

Une approche non paramétrique a été utilisée afin d'établir les intervalles de référence pour les enfants et les adolescents pour lesquels les 2,5ème et 97,5ème percentiles de la distribution des valeurs ont été calculés. Comme la taille d'échantillon de la population des nourrissons est plus réduite, il a été utilisé une mesure robuste de la position et de la dispersion, telle qu'elle a été développée par Horn et Pesce, pour établir les intervalles de référence des 2,5ème et 97,5ème percentiles.[16–18]

Les intervalles de référence détaillés par groupe d'âge et nombre d'échantillons sont indiqués dans le tableau des Intervalles de référence.

Intervalles de référence pédiatrique d'IMMULITE 2000 T4 Totale

Groupe d'âge	*n*	Conventionnel (µg/dl)	SI (nmol/l)
Nourrissons (1–23 mois)	82	6,2–11,8	80–152
Enfants (2–12 ans)	197	5,4–11,1	70–143
Adolescents (13–20 ans)	148	4,9–10,2	63–131

Ces valeurs sont fournies *à titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

Limites

De nombreux facteurs physiologiques, pharmacologiques, pathologiques et génétiques peuvent affecter l'interprétation des résultats de la T4 totale. (Voir Introduction.)

Plus de 20 % des patients gravement malades, mais ne souffrant pas d'atteinte de la thyroïde, ont des taux de T4 totale peu élevés dans le sérum.

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec les immunodosages *in vitro*. [Voir Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34:27-33.] Les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre des sérums rares et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en µg/dl. (En l'absence de précision supplémentaire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques prélevés sur tubes sans anticoagulant, ni gel, ni activateur de la coagulation.)

Facteur de conversion :
µg/dl × 12,87 → nmol/l

Domaine de mesure : de 1,0 à 24 µg/dl (de 13 à 309 nmol/l)

Le dosage peut être retracé à un standard interne, manufacturé à l'aide de matériaux et procédures de mensuration qualifiées.

Sensibilité analytique : 0,3 µg/dl (3,9 nmol/l)

Précision : les valeurs ont été établies à partir de doublets dosés dans deux séries différentes chaque jour pendant 20 jours soit au total 40 séries et 80 doublets. (Voir le tableau « Precision ».)

Test de dilution : les échantillons ont été testés avec des taux de dilution variés (Voir le tableau " Linearity » pour des données représentatives.)

Test de récupération: les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions (42, 90 et 150 µg/dl). (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : Le test est hautement spécifique de la T4. (Voir le tableau « Specificity ».)

Bilirubine : La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

Biotine : Les échantillons contenant de la biotine à une concentration de 1500 ng/ml présentent un changement de résultats inférieur ou égal à 10 %. Des concentrations de biotine supérieures à cette valeur peuvent entraîner des résultats d'échantillons patients erronés.

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 5000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

Autres types d'échantillons : pour estimer l'effet de l'utilisation de différents type d'échantillons, 20 volontaires ont été prélevés sur tubes secs, héparinés, et sur tubes vacutainer SST® Becton Dickinson. Des volumes égaux de ces différents échantillons ont été mélangés avec plusieurs concentrations d' T4 Totale pour obtenir des valeurs à l'intérieur du domaine de mesure du test puis dosés avec le protocole l'IMMULITE 2000 T4 Totale.

(Héparine) = 0,89 (Sérum) + 0,61 µg/dl
r = 0,987

(SST) = 1,01 (tubes ordinaires) + 0,42 µg/dl
r = 0,971

Moyennes :
7,72 µg/dl (Sérum)
7,51 µg/dl (Héparine)
8,21 µg/dl (SST)

Comparaison de méthodes : le test a été comparé au test IMMULITE T4 Totale sur 276 échantillons de patients (dont les concentrations allaient d'environ 3 à 24 µg/dl. Voir graphique.)
Par régression linéaire :

(IML 2000) = 0,93 (IML) + 0,56 µg/dl
r = 0,978

Moyennes :
9,2 µg/dl (IMMULITE 2000)
9,3 µg/dl (IMMULITE)

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

Le Système Qualité de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. est certifié ISO 13485.

Italiano

T4 Totale

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE® 2000 per la misurazione quantitativa della tiroxina (T4) totale circolante nel siero. Le misurazioni di T4 vengono utilizzate per la diagnosi e il trattamento delle patologie tiroidee.

Numero di Codice:
L2KT42 (200 test), **L2KT46** (600 test)

Codice del Test: **TT4** Colore: **blu chiaro**

Riassunto e Spiegazione del Test

La Tiroxina (T4), il principale ormone tiroideo, circola normalmente ad un livello che varia da 4,5 a 12,5 µg/dL (da 58 a 161 nmol/L), in gran parte legata alle proteine di trasporto, in modo particolare alla TBG. In presenza di livelli normali di proteine ormone-leganti, l'ipertiroidismo è caratterizzato da livelli più elevati di T4 in circolo, e l'ipotiroidismo da livelli più bassi.

Tuttavia, sono state riscontrate eccezioni al parallelismo tra stato tiroideo e concentrazioni di T4 totale in pazienti con livelli anomali di proteine tiroidee leganti. E' noto che i livelli di TBG vengono alterati in varie condizioni fisiologiche, farmacologiche e genetiche, perciò, si possono ottenere livelli elevati di T4 quando i livelli di TBG sono elevati, come durante la gravidanza, porfiria acuta intermittente, TBG ereditaria elevata ed in pazienti sottoposti a terapia estrogenica o che utilizzano contraccettivi orali. I livelli di T4 totale possono essere più bassi quando i livelli di TBG sono bassi, come nella deficienza nefrosica, epatica, gastrointestinale e neoplastica; nell'acromegalia, nell'ipoproteinemia e nella deficienza ereditaria di TBG; in pazienti sottoposti a terapia androgenica, con testosterone o steroidi anabolici. Livelli bassi di T4 (che non corrispondono allo stato tiroideo) possono anche essere provocati dalla difenilidantoina, da dosi elevate di salicilati e liotironina a causa della loro competizione per i siti leganti della TBG.

Poichè il livello di T4 totale è spesso anomalo in pazienti eutiroidei e poichè può essere normale in pazienti con funzionalità tiroidea anomala, si consiglia una stima del livello di TBG in circolo utilizzando, ad esempio, il dosaggio della T3 Uptake. Nei disturbi della funzionalità tiroidea, i valori di T4 totale e di T3 Uptake devieranno dalla normalità nella stessa direzione, mentre nei pazienti eutiroidei con alterazioni della TBG essi devieranno in direzioni opposte. Il prodotto dei valori di T4 e di T3 Uptake, diviso per 100, è noto come Free Thyroxine Index (FT4I - Indice di Tiroxina Libera).

Principio del Dosaggio

IMMULITE 2000 T4 Totale é un enzima di fase solida, chimico luminescente, immuno-analisi.

Cicli d'incubazione: 1 × 30 minuti

Prelievo dei Campioni

I campioni di plasma EDTA non devono essere utilizzati.

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

I campioni emolizzati posson 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 T4 Totale non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate

Volume richiesto: 15 µL di siero

Conservazione: 7 giorni a 2–8°C o 2 mesi a –20°C.

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

ATTENZIONE! POTENZIALE PERICOLO BIOLOGICO
Contiene materiale di origine umana. Ciascuna donazione di sangue o componenti ematici umani è stata testata con metodi approvati dalla FDA per rilevare la presenza di anticorpi al virus dell'immunodeficienza umana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2), nonché per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e gli anticorpi al virus dell'epatite C (HCV). I risultati del test sono stati negativi (non ripetutamente reattivi). Nessun test offre assicurazione completa che questi o altri agenti infettivi siano assenti; questo materiale va trattato utilizzando le corrette prassi di laboratorio e le precauzioni universali.[13-15]

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale portatore e trasmettitore di agenti patogeni.

Reagenti: Conservare a 2–8°C. Scartare in conformità alle leggi applicabili.

Seguire le precauzioni universali, e maneggiare tutti i componenti come se fossero capaci di trasmettere agenti infettivi. Sono stati analizzati i materiali di sorgente dal sangue umano e sono stati trovati non reattivi per sifilide; per anticorpi ad HIV 1 e 2; per l'antigeno superficiale dell'epatite B; e per anticorpi all'epatite C.

E' stata aggiunta Sodio Azide a concentrazioni inferiori a 0,1 g/dL come conservante. Al momento dell'eliminazione, irrorare con molta acqua per evitare la formazione di azidi metalliche potenzialmente esplosive nelle tubature di piombo e di rame.

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 unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

Contenitore di Sferette T4 Totale (L2T412)
Con codice a barre. 200 biglie coattate con un anticorpo monoclonale di ratto anti-T4. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KT42: 1 confezione
L2KT46: 3 confezioni

Porta Reagente T4 Totale (L2T4A2)
con codice a barre. 21 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con T4, con conservanti, dispensata in maniera eguale nella camera A e B. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KT42: 1 Porta Reagente
L2KT46: 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 T4 Totale (LT4L, LT4H)
Due flaconi (Basso ed Alto), ciascuno con 2 mL di T4 in siero umano processato, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, e per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KT42: 1 set **L2KT46:** 2 set

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste sulle provette delle aliquote (fornite col kit) cosicché il lettore possa registrare i codici a barre.

Componenti del Kit Forniti Separatamente

Multidiluente 1 (L2M1Z)
Per la diluizione interna di campioni ad elevata concentrazione. Una provetta di siero umano normale processato, concentrato (pronto all'uso), contenente livelli da non rilevabili a bassi di T4 totale, con conservanti. Conservazione: 30 giorni (dopo l'apertura) a 2–8°C oppure 6 mesi (in aliquote) a –20°C.
L2M1Z: 25 mL

Vengono fornite le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm cosicchè i codici a barre possano essere letti dal lettore interno
L2M1Z: 3 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 Diluente del Campione
L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluente del Campione

Materiali richiesti
Acqua distillata o deionizzata; provette di vetro; controlli.

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per: preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 2 settimane.

Controllo di Qualità: Per la frequenza del controllo di qualità seguire le normative in vigore o i requisiti di accreditamento.

Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (alto e basso) di T4 totale.

Siemens Healthcare Diagnostics consiglia l'utilizzo di materiali di controllo della qualità disponibili in commercio con almeno 2 livelli (bassi e alti). Un livello soddisfacente di prestazioni si raggiunge quando i valori dell'analita ottenuti rientrano nei range di accettabilità del Controllo per il sistema o nei range stabiliti all'interno del laboratorio attraverso un programma appropriato di valutazione del controllo di qualità.

Valori Attesi

Popolazione adulta: Data l'affinità con T4 IMMULITE (vedi “Confronto di Metodi”) ci si attende che il dosaggio abbia gli stessi range di riferimento per adulti:

4,5–12,5 µg/dL (58–161 nmol/L)

I range di riferimento sono stati generati utilizzando campioni di siero raccolti in provette di vetro senza barriere di gel o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.

Popolazione pediatrica: Sono stati stabiliti gli intervalli di riferimento per la popolazione pediatrica (bambini e adolescenti) per il dosaggio IMMULITE T4 Totale in conformità alle linee guida CLSI EP28-A3C.[16]

Per l’analisi dei dati, la popolazione è stata divisa in tre sottogruppi in base all’età:

- Neonati: pazienti con età 1−23 mesi
- Bambini: pazienti con età 2−12 anni
- Adolescenti: pazienti con età 13−20 anni

È stato utilizzo un approccio non parametrico per stabilire gli intervalli di riferimento per bambini e adolescenti quando sono stati calcolati i percentili 2,5 e 97,5 della distribuzione dei valori. Per la popolazione infantile, è stata utilizzata una misura robusta della posizione e della diffusione sviluppata da Horn e Pesce per la stima degli intervalli di riferimento dei percentili 2,5 e 97,5, con il ridimensionamento del campione più piccolo.[16–18]

Gli intervalli di riferimento forniti in dettaglio in base ai gruppi di età e numeri di campioni possono essere osservati nella tabella Intervalli di riferimento.

Intervalli di riferimento pediatrici di IMMULITE 2000 T4 Totale

Gruppo di età	*n*	Convenzionale (µg/dL)	SI (nmol/L)
Neonati (1–23 mesi)	82	6,2–11,8	80–152
Bambini (2–12 anni)	197	5,4–11,1	70–143
Adolescenti (13–20 anni)	148	4,9–10,2	63–131

Detti valori dovrebbero essere considerati solo come *suggerimento*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

Limiti

Tanti fattori fisiologici, farmacologici, patologici e genetici influiscono sull'interpretazione dei risultati della T4 totale. (Consultare il paragrafo “Ricapitolazione e Spiegazione”.)

Oltre il 20% dei pazienti con malattia non tiroidea, che sono malati in modo critico, hanno livelli bassi di T4 totale nel siero.

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi *in vitro*. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34:27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedi tavole e grafici per i dati *rappresentativi*. I risultati sono indicati in µg/dL. (Laddove non diversamente specificato, tutti i dati sono stati generati su campioni di siero raccolti in provette senza gel separatore o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.)

Fattore di Conversione:
µg/dL × 12,87 → nmol/L

Range di Calibrazione: 1,0 a 24 µg/dL (13 a 309 nmol/L)

Il dosaggio è standardizzato verso uno standard interno preparato usato con materiali e secondo procedure di qualità.

Sensibilità Analitica: 0,3 µg/dL (3,9 nmol/L)

Precisione: Sono stati dosati campioni in doppio su 20 giorni, due sedute al giorno, per un totale di 40 sedute ed 80 replicati. (Vedi la Tabella "Precision".)

Linearità: Sono stati dosati campioni a diluizioni diverse. (Vedi la Tabella "Linearity" per dati rappresentantivi.)

Recupero: Sono stati dosati campioni ai quali sono state aggiunte tre soluzioni (42, 90 e 150 µg/dL) 1:19. (Vedi la Tabella "Recovery" per dati rappresentantivi.)

Specificità: Il dosaggio è estremamente specifico per la T4. (Vedi la Tabella "Specificity".)

Bilirubina: La presenza di bilirubina coniugata in concentrazioni fino a 200 mg/L non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Biotina: I campioni che contengono biotina a una concentrazione di 1500 ng/mL dimostrano una variazione nei risultati inferiore o pari al 10%. Le concentrazioni di biotina superiori a questo valore potrebbero portare a risultati non corretti dei campioni dei pazienti.

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 5000 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Tipo di Campione Alternativo: Per determinare l'effetto di campioni alternativi, è stato prelevato del sangue da 20 volontari in provette semplici, eparinizzate e Becton Dickinson vacutainer SST®. Ad ugual volumi di campioni misti sono state aggiunte varie concentrazioni di T4 Totale per ottenere valori lungo l'intero range di calibrazione del dosaggio e quindi dosati con il kit IMMULITE 2000 T4 Totale.

(Eparina) = 0,89 (Siero) + 0,61 µg/dL
r = 0,987

(SST) = 1,01 (tubi semplici) + 0,42 µg/dL
r = 0,971

Valore medio:
7,72 µg/dL (Siero)
7,51 µg/dL (Eparina)
8,21 µg/dL (SST)

Confronto di Metodi: Il dosaggio è stato comparato al dosaggio T4 totale IMMULITE su 276 campioni di pazienti. (Range di concentrazione: da 3 fino a 24 µg/dL. Vedere la grafica.) Con regressione lineare:

(IML 2000) = 0,93 (IML) + 0,56 µg/dL
r = 0,978

Valore medio:
9,2 µg/dL (IMMULITE 2000)
9,3 µg/dL (IMMULITE)

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore Nazionale.

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

T4 Total

Utilização: Para uso diagnóstico *in vitro* com os Analisadores dos Sistemas IMMULITE® 2000 – para a medição quantitativa da tiroxina circulante total (T4) em soro. As medições de T4 são utilizadas no diagnóstico e tratamento de doença da tiróide.

Números de catálogo:
L2KT42 (200 testes), **L2KT46** (600 testes)

Código do teste: **TT4** Cor: **Azul claro**

Sumário e explicação do teste

A Tiroxina (T4), é a principal hormona da tiróide circulando normalmente em níveis próximos de 4,5 a 12,5 µg/dL (58 a 161 nmol/L), essencialmente ligada a proteínas de transporte, nomeadamente a TBG. Definidos os valores normais da TBG, o hipertiroidismo é caracterizado por um aumento dos níveis normais de T4, e o hipotiroidismo por um decréscimo.

Podem no entanto ser encontradas excepções a este paralelismo entre a concentração do T4 e a função tiroideia em indivíduos com níveis anormais de TBG. Sabe-se que valores da TBG podem ser alterados sob condições fisiológicas, farmacológicas e genéticas. Assim,

valores elevados de T4 podem ser detectados paralelamente com os elevados valores de TBG encontrados na gravidez, na porfirina aguda intermitente, hiperproteinémia, TBG elevada hereditária e em pacientes sob terapia com estrogéneos e utilizadores de contraceptivos orais. Valores de T4 total podem estar diminuidos quando os valores da TBG são baixos, como acontece nas doenças nefróticas, hepáticas, gastrointestinais e neoplásicas; na acromegalia, hipoproteinémia e na deficiência hereditária da TBG; e em pacientes sob terapia com androgéneos, testosterona ou esteroides anabolizantes. Baixos valores de T4, não relacionados com a função tiroideia, podem também ser causados por altas doses de difenilidantoina, salicilatos e liotironina uma vez que tem na TBG locais de ligação competitivos com o T4.

Devido ao facto de os níveis de T4 total serem em geral anormais em eutirodeus e, porque podem ser normais em doentes com a função tiroideia anormal é aconselhável a determinação do nível de circulação de TBG, dado por exemplo por um ensaio de T3 Uptake. Em distúrbios da função tiroideia os valores de T4 total e T3 Uptake apresentam um desvio do normal na mesma direcção enquanto que nos doentes eutiroideus com alterações da TBG se desviam em direcções opostas. O valor de T4 e T3 Uptake divididos por 100, é conhecido como Indice de tiroxina livre (FT4I), um indicador largamente usado na avaliação do estado tiroideu.

Princípio do procedimento

O IMMULITE 2000 T4 Total é um imunoensaio competitivo de fase sólida, de enzimas quimico-luminosas.

Ciclos de incubação: 1 × 30 minutos

Colheita

O plasma EDTA não deve ser usado como um tipo de amostra.

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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 T4 Total não foram ainda testados com todas as possiveis 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: 15 µL de soro

Estabilidade: 7 dias a 2–8°C, ou 2 meses a –20°C.

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.



PRECAUÇÃO! POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO
Contém material de origem humana. Cada dádiva de sangue ou componente de sangue humano foi testada pelos métodos aprovados pela FDA quanto à presença de anticorpos dos vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e tipo 2 (VIH-2), bem como do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e dos anticorpos do vírus da hepatite C (VHC). Os resultados dos testes foram negativos (não repetidamente reativos). Nenhum teste oferece total garantia de que estes ou outros agentes infeciosos estejam ausentes; este material deve ser manuseado de acordo com as boas práticas laboratoriais e precauções universais[13-15].

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.

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).

Água: Utilize água destilada ou desionizada.

Materiais fornecidos

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. As etiquetas no interior das caixas são necessárias para o ensaio.

Embalagem de pérolas de T4 Total (L2T412)
Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas de anticorpo monoclonal de rato anti-T4. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KT42: 1 embalagem
L2KT46: 3 embalagens

Embalagem de reagentes de T4 Total (L2T4A2)
Com código de barras. Contém 21 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugado com T4, com conservante, divididos de igual modo pelas câmaras A e B. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KT42: 1 embalagem
L2KT46: 3 embalagens

Antes de utilizar, retire a parte superior da etiqueta na perfuração, sem danificar o código de barras. Remova o selo de alumínio do topo da embalagem, e encaixe a tampa deslizante nas rampas da tampa do reagente.

Ajustes de T4 Total (LT4L, LT4H)
Dois frascos (nível alto e baixo), de 2,0 mL cada, de T4 em matriz de soro humano, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

L2KT42: 1 conjunto **L2KT46:** 2 conjuntos

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas de alíquota apropriadas (fornecidas com o "kit") em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Multidiluente 1 (L2M1Z)
Para diluição de amostras no aparelho. Um frasco de concentrado pronto a usar, constituido por soro humano normal, processado, com níveis baixos ou indetectáveis de T4 Total, com conservante. Estabilidade: 30 dias (após abertura) a 2–8°C ou 6 meses (em alíquotas) a –20°C.
L2M1Z: 25 mL

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2M1Z: 3 etiquetas

L2SUBM: Substrato quiomioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Kit de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)
L2ZT: 250 Tubos de diluente da amostra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

Também necessário
Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos.

Procedimento de doseamento

Ter em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000.

Consultar o Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000 relativamente aos procedimentos de preparação, diluição, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável: 2 semanas

Amostras de controlo de qualidade: Observe os regulamentos governamentais ou os requisitos de acreditação quanto à frequência do controlo de qualidade.

Utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de T4 total.

A Siemens Healthcare Diagnostics recomenda a utilização de materiais de controlo de qualidade comercialmente disponíveis com pelo menos 2 níveis (baixo e alto). É alcançado um nível de desempenho satisfatório quando os valores dos analitos obtidos estiverem dentro dos Limites de Controlo Aceitáveis para o sistema ou dentro dos limites estabelecidos e determinados pelo regime de controlo de qualidade laboratorial interno adequado.

Valores de Referência

Adulto: Baseado na sua relação com o T4 Total IMMULITE (ver comparação de métodos), pode-se esperar que o doseamento tenha valores de referência idênticos para adultos:

4,5–12,5 µg/dL (58–161 nmol/L)

As gamas de referência foram obtidas com amostras de soro colhidas em tubos de vidro, sem barreiras de gel ou aditivos promotores de coágulo.

Pediátrico: Os intervalos de referência da população pediátrica (crianças e adolescentes) para o ensaio T4 Total IMMULITE foram estabelecidos de acordo com a norma EP28-A3C do CLSI[16].

Para efeitos de análise dos dados, a população foi dividida em três faixas etárias:

- Bebés: indivíduos com 1–23 meses de idade
- Crianças: indivíduos com 2–12 anos de idade
- Adolescentes: indivíduos com 13–20 anos de idade

Utilizou-se uma abordagem não paramétrica para estabelecer os intervalos de referência de crianças e adolescentes, segundo a qual foram calculados os percentis 2,5 e 97,5 da distribuição de valores. Para a população de bebés, utilizou-se uma medição sólida de localização e dispersão, conforme desenvolvido por Horn e Pesce, para estimar os intervalos de referência dos percentis 2,5 e 97,5, abrangendo o tamanho de amostra mais pequeno[16–18].

Os intervalos de referência discriminados por faixa etária e número de amostras são apresentados na tabela de Intervalos de referência.

Intervalos de referência pediátricos do T4 Total IMMULITE 2000

Faixa etária	*n*	Convencional (µg/dL)	SI (nmol/L)
Bebés (1–23 meses)	82	6,2–11,8	80–152
Crianças (2–12 anos)	197	5,4–11,1	70–143
Adolescentes (13–20 anos)	148	4,9–10,2	63–131

Estes valores devem ser considerados apenas como directrizes. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores.

Limitações

Vários fatores fisiológicos, farmacológicos, patológicos e genéticos podem afectar a interpretação dos resultados do T4 total. Ver a secção Sumário e Explicação do Teste.

Mais de 20% dos doentes em estado crítico com doenças não tiorideias possuem níveis baixos em soro de T4 total.

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 de doseamento. Os resultados são apresentados em µg/dL. 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:
µg/dL × 12,87 → nmol/L

Calibração: De 1,0 a 24 µg/dL
(De 13 a 309 nmol/L)

O ensaio é monotorizado com padrão interno feito com materiais qualificados e procedimentos de medição.

Sensibilidade Analítica: 0,3 µg/dL (3,9 nmol/l).

Precisão: As amostras foram doseadas em duplicado durante 20 dias, 2 ensaios por dia, perfazendo um total de 40 ensaios e 80 réplicas. (Ver a tabela de "Precision".)

Linearidade: As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. (Ver a tabela de "Linearity" para dados representativos.)

Recuperação: As amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 com três soluções (42, 90 e 150 µg/dL) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

Especificidade: O doseamento é específico para T4. (Ver tabela de "Specificity".)

Bilirrubina: A presença de bilirrubina em concentrações até 200 mg/L não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Biotina: As amostras que contenham biotina a uma concentração de 1500 ng/ml demonstram uma alteração igual ou inferior a 10% nos resultados. Concentrações de biotina superiores a esta poderão originar resultados incorretos para as amostras de doentes.

Hemolise: A presença de hemoglobina em concentrações até 512 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipemia: A presença de triglicéridos em concentrações até 5000 mg/dL não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Tipo de amostra alternativa: Para determinar o efeito de amostras alternatives, foi colhido sangue de 20 voluntários em tubos secos, heparinizados e tubos de vacum SST® da Becton Dickinson. A volumes iguais das mesmas amostras foram adicionadas várias concentrações de T4 Total para obter valores ao longo da gama de calibração do ensaio. As amostras foram doseadas com o IMMULITE 2000 T4 Total.

(Heparin) = 0,89 (Soro) + 0,61 µg/dL
r = 0,987

(SST) = 1,01 (tubos simples) + 0,42 µg/dL
r = 0,971

Médias:
7,72 µg/dL (Soro)
7,51 µg/dL (Heparin)
8,21 µg/dL (SST)

Comparação de métodos: O doseamento foi comparado ao T4 Total IMMULITE em 276 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 3 a 24 µg/dL. Consulte o gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 0,93 (IML) + 0,56 µg/dL
r = 0,978

Médias:
9,2 µg/dL (IMMULITE 2000)
9,3 µg/dL (IMMULITE)

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE is a trademark of
Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2018 Siemens Healthcare Diagnostics.
All rights reserved.

Made in: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

CE

2018-03-15

PIL2KT4 – 27

cc#EU23262, cc#EU23262A, cc#EU23343

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

IVD

Symbol Definition
En: *In vitro* diagnostic medical device
De: Medizinisches Gerät zur *in vitro* Diagnose
Es: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
Fr: Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
It: Dispositivo medico per diagnostica *in vitro*
Pt: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

REF

Symbol Definition
En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo

En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante

EC REP

En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia

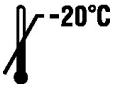
CE

En: CE Mark
De: CE-Kennzeichen
Es: Marca CE
Fr: Marque CE
It: Marchio CE
Pt: Marca CE

CE 0088

En: CE Mark with identification number of notified body
De: CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle
Es: Marca CE con número de identificación del organismo notificado
Fr: Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié
It: Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato
Pt: Marca CE, com número de identificação do organismo notificado

En: Consult instructions for use
De: Bedienungshinweise beachten
Es: Consulte las instrucciones de uso
Fr: Consulter le mode d'emploi
It: Consultare le istruzioni per l'uso
Pt: Consulte as instruções de utilização

Symbol	Definition
	**En:** Caution! Potential Biohazard **De:** Vorsicht! Biologisches Risikomaterial **Es:** ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial **Fr:** Avertissement ! Risque biologique potentiel **It:** Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico **Pt:** Atenção! Potenciais Riscos Biológicos
	**En:** Temperature limitation (2–8°C) **De:** Temperaturgrenze (2–8°C) **Es:** Limitación de temperatura (2–8°C) **Fr:** Limites de température (2–8°C) **It:** Limiti di temperatura (2–8°C) **Pt:** Limites de temperatura (2–8°C)
	**En:** Upper limit of temperature (≤ -20°C) **De:** Obere Temperaturgrenze (≤ -20°C) **Es:** Límite superior de temperatura (≤ -20°C) **Fr:** Limite supérieure de température (≤ -20°C) **It:** Limite superiore di temperatura (≤ -20°C) **Pt:** Limite máximo de temperatura (≤ -20°C)
	**En:** Lower limit of temperature (≥ 2°C) **De:** Mindesttemperatur (≥ 2°C) **Es:** Límite inferior de temperatura (≥ 2°C) **Fr:** Limite inférieure de température (≥ 2°C) **It:** Limite inferiore di temperatura (≥ 2°C) **Pt:** Limite mínimo de temperatura (≥ 2°C)
	**En:** Do not freeze (> 0°C) **De:** Nicht einfrieren (> 0°C) **Es:** No congelar (> 0°C) **Fr:** Ne pas congeler (> 0°C) **It:** Non congelare (> 0°C) **Pt:** Não congelar (> 0°C)
	**En:** Do not reuse **De:** Nicht zur Wiederverwendung **Es:** No reutilizar **Fr:** Ne pas réutiliser **It:** Non riutilizzare **Pt:** Não reutilizar

Symbol	Definition
	**En:** Keep away from sunlight **De:** Vor Sonneneinstrahlung schützen **Es:** Proteger de la luz solar **Fr:** Maintenir hors de portée de la lumière du soleil **It:** Non esporre alla luce del sole **Pt:** Manter afastado da luz solar
	**En:** Batch code **De:** Chargenbezeichnung **Es:** Número de lote **Fr:** Numéro de code du lot **It:** Codice lotto **Pt:** Código de lote
	**En:** Contains sufficient for (n) tests **De:** Es reicht für (n) Tests **Es:** Contiene suficiente para (n) pruebas **Fr:** Contient du matériel suffisant pour (n) tests **It:** Contiene materiale sufficiente per (n) test **Pt:** Contém o suficiente para (n) testes
2008-01	**En:** Date format (year-month) **De:** Datumsformat (Jahr-Monat) **Es:** Formato de fecha (año-mes) **Fr:** Format de la date (année-mois) **It:** Formato data (anno-mese) **Pt:** Formato de data (ano-mês)
	**En:** Use by **De:** Verwendbar bis **Es:** Fecha de caducidad **Fr:** A utiliser avant **It:** Usare entro **Pt:** Usar até
	**En:** Health Hazard **De:** Gesundheitsgefährdung **Es:** Peligro para la salud **Fr:** Dangereux pour la santé **It:** Pericolo per la salute **Pt:** Perigo para a saúde
	**En:** Exclamation Mark **De:** Ausrufezeichen **Es:** Signo de exclamación **Fr:** Point d'exclamation **It:** Punto esclamativo **Pt:** Ponto de exclamação
	**En:** Corrosion **De:** Korrosion **Es:** Corrosión **Fr:** Corrosion **It:** Corrosione **Pt:** Corrosão

Symbol	Definition
	**En:** Skull and Crossbones **De:** Totenkopf mit gekreuzten Knochen **Es:** Calavera y tibias cruzadas **Fr:** Tête de mort sur tibias croisés **It:** Teschio e tibie incrociate **Pt:** Caveira sobre tíbias cruzadas
	**En:** Environment **De:** Umwelt **Es:** Medio ambiente **Fr:** Environnement **It:** Ambiente **Pt:** Ambiente
BEAD PACK	**En:** Bead Pack **De:** Kugel-Container **Es:** Cartucho de bolas **Fr:** Cartouche de billes **It:** Contenitore di biglie **Pt:** Embalagem de esferas
TEST UNIT	**En:** Test Unit **De:** Testeinheit **Es:** Unidades de análisis **Fr:** Unité de test **It:** Test Unit **Pt:** Unidades de Teste
REAG WEDGE **REAG WEDGE A** **REAG WEDGE B** **REAG WEDGE D**	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto

Symbol	Definition
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL **CONTROL 1** **CONTROL 2** **CONTROL 3**	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo

Symbol Definition

CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

Total Testosterone

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 Total Testosterone

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the quantitative measurement of total testosterone in serum and heparinized plasma, as an aid in the diagnosis and management of conditions involving excess or deficiency of this androgen.

Catalog Number: **L2KTW2** (200 tests), **L2KTW6** (600 tests)

Test Code: **TES** Color: **Dark Green**

Summary and Explanation

In the male, testosterone is mainly synthesized in the interstitial Leydig cells of the testis, and is regulated by the interstitial cell stimulating hormone (ICSH), or luteinizing hormone (LH) of the anterior pituitary (the female equivalent of ICSH). Testosterone is responsible for the development of secondary sex characteristics, such as the accessory sex organs, the prostate, seminal vesicles and the growth of facial, pubic and axillary hair. Testosterone measurements have been very helpful in evaluating hypogonadal states. Increased testosterone levels in males can be found in complete androgen resistance (testicular feminization).[9] Common causes of decreased testosterone levels in males include: hypogonadism, orchidectomy, estrogen therapy, Klinefelter's syndrome, hypopituitarism, and hepatic cirrhosis.

In the female, testosterone levels are normally found to be much lower than those encountered in the healthy male. Testosterone in the female comes from three sources. It is secreted in small quantities by both the adrenal glands and the ovaries, and in healthy women 50–60% of the daily testosterone production arises from peripheral metabolism of prehormones, chiefly androstenedione. Common causes of increased serum testosterone levels in females include polycystic ovaries (Stein-Leventhal syndrome), ovarian tumors, adrenal tumors and adrenal hyperplasia. Virilization in women is associated with the administration of androgens and endogenous overproduction of testosterone. There appears to be a correlation between serum testosterone levels and the degree of virilization in women, although approximately 25% of women with varying degrees of virilism have serum testosterone levels that fall within the female reference range.

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 Total Testosterone is a solid-phase, competitive chemiluminescent enzyme immunoassay.

Incubation Cycles: 1 × 60 minutes
Time to First Result: 65 minutes

Specimen Collection

EDTA tubes should not be used in the IMMULITE 2000 Total Testosterone procedure.

Lipemic or grossly contaminated samples may give erroneous results. 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 Total Testosterone 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 or plasma

Storage: 7 days at 2–8°C, or 2 months at –20°C.[8]

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.



CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD
Contains human source material. Each donation of human blood or blood component was tested by FDA-approved methods for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) as well as for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis C virus (HCV). The test results were negative (not repeatedly reactive). No test offers complete assurance that these or other infectious agents are absent; this material should be handled using good laboratory practices and universal precautions.[10-12]

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.

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.

Total Testosterone Bead Pack (L2TW12)
With barcode. 200 beads, coated with polyclonal rabbit anti-testosterone antibody. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KTW2: 1 pack **L2KTW6:** 3 packs

Total Testosterone Reagent Wedge (L2TWA2)
With barcode. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to testosterone in buffer. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KTW2: 1 wedge **L2KTW6:** 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.

Total Testosterone Adjustors (LTWL, LTWH)
Two vials (Low and High), 4.0 mL each, of testosterone in processed human serum, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KTW2: 1 set **L2KTW6:** 2 sets

Before making an adjustment, place the appropriate Aliquot Labels (supplied with the kit) on test tubes so that the barcodes can be read by the on-board reader.

Kit Components Supplied Separately

Multi-Diluent 1 (L2M1Z)
For the on-board dilution of high patient samples. One vial of concentrated (ready-to-use) processed, normal human serum, with preservative, containing undetectable to low levels of testosterone. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2M1Z: 25 mL

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.
L2M1Z: 3 labels

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate
L2PWSM: Probe Wash
L2KPM: Probe Cleaning Kit
LRXT: Reaction Tubes (disposable)

L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

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 Systems Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual for preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval: 1 week

Quality Control Samples: Follow government regulations or accreditation requirements for quality control frequency.

Use controls or serum pools with at least two levels (low and high) of total testosterone.

Siemens Healthcare Diagnostics recommends the use of commercially available quality control materials with at least 2 levels (low and high). A satisfactory level of performance is achieved when the analyte values obtained are within the Acceptable Control Range for the system, or within an established range determined by an appropriate internal laboratory quality control scheme.

Expected Values

To determine testosterone reference ranges for men and nonpregnant women, a total of 186 serum samples were collected from apparently healthy adult males and females. All samples were assayed by the IMMULITE 2000 Total Testosterone procedure, with the results tabulated below.

	N	Median (ng/dL)	Central 95% Range	Absolute Range
Females				
Ovulating	40	25	ND–73	ND–73
Post-menopausal	28	26	ND–43	ND–43
Males				
20–49 yrs	95	323	160–726	72–853
≥ 50 years	23	317	129–767	129–767

ND: not detectable

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/dL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Conversion Factor:
ng/dL × 0.03467 → nmol/L

Calibration Range: 20–1600 ng/dL (0.7–55 nmol/L)

The assay is traceable to an internal standard manufactured using qualified materials and measurement procedures.

Analytical Sensitivity: 15 ng/dL (0.5 nmol/L)

Precision: Samples were processed over the course of 5 days, two runs per day, for a total of 10 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 testosterone solutions (3000, 6000 and 12,000 ng/dL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody is highly specific for testosterone. (See "Specificity" table.)

Bilirubin: May cause elevation of values. (See "Bilirubin" table.)

Hemolysis: Presence of hemoglobin in concentrations up to 270 mg/dL has no apparent effect on results, within the precision of the assay. (See "Hemolysis" table.)

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations above 500 mg/dL may interfere with the assay. (See "Lipemia" table.)

Alternate Sample Type: To assess the effect of alternate sample types, blood was collected from 17 volunteers into plain plastic serum tubes, plastic heparinized and EDTA tubes, and plastic gel barrier tubes (SST®). All tubes were from Becton Dickinson. All samples were assayed by the IMMULITE 2000 Total Testosterone procedure.

(EDTA Plastic) = 1.78 (Serum Plastic) + 47 ng/dL
r = 0.981

(Na Heparin Plastic) = 0.89 (Serum Plastic) + 2.3 ng/dL
r = 0.977

(SST Plastic) = 0.96 (Serum Plastic) + 4.0 ng/dL
r = 0.976

Means:
296 ng/dL (Serum Plastic)
266 ng/dL (Na Heparin Plastic)
575 ng/dL (EDTA Plastic)
288 ng/dL (SST Plastic)

EDTA plasma is not suitable for use. Sodium heparin causes a depression in values.

Method Comparison: The IMMULITE 2000 Total Testosterone assay was compared to Coat-A-Count® Total Testosterone on 197 samples. (Concentration range: approximately 20 to 1200 ng/dL. See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 1.00 (CAC) + 13.3 ng/dL
r = 0.976

Means:
326 ng/dL (IMMULITE 2000)
312 ng/dL (Coat-A-Count)

References

1) Abraham GE, editor. Handbook of radioimmunoassay. Marcel Dekker, 1977. 2) DeGroot LJ, editor. Endocrinology. Grune and Stratton, 1980. 3) Jaffe BM, Behrman NR, editors. Methods of hormone radioimmunoassay. Academic Press, 1974. 4) Yen SSC, Jaffe RB, editors. Reproductive endocrinology. W.B. Saunders, 1978. 5) Testosterone. Slide/Seminar Program – Bioeducational Publications, 1980. 6) Testosterone. Mini-Seminar. Diagnostic Products Corporation, 1982;5(2). 7) Ismail AAA, et al. The role of testosterone measurements in the investigation of androgen disorders. Ann Clin Biochem 1986;23:113-34. 8) Demetriou JA. Testosterone. In: Pesce AJ, Kaplan LA, editors. Methods in clinical chemistry. St. Louis: The C. V. Mosby Company, 1987: 268. 9) Wilson JD, Foster DW, editors. Williams textbook of endocrinology. Philadelphia: Saunders, 1992: 923-6. 10) Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. MMWR, 1988;37:377–82, 387–8. 11) Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3. 12) Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030.

Technical Assistance

In the United States, contact Siemens Healthcare Diagnostics Technical Services department. Tel: 877.229.3711. Outside the United States, contact your National Distributor.

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

Precision (ng/dL)

		Within-Run[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	27.1	4.41	16.3%	6.58	24.3%
2	86.1	10.1	11.7%	11.2	13.0%
3	152	15.2	10.0%	15.6	10.3%
4	280	23.3	8.3%	25.6	9.1%
5	414	29.8	7.2%	33.8	8.2%
6	991	50.2	5.1%	71.5	7.2%

Linearity (ng/dL)

	Dilution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	8 in 8	449	—	—
	4 in 8	230	225	102%
	2 in 8	120	112	107%
	1 in 8	63.8	56.2	114%
2	8 in 8	533	—	—
	4 in 8	302	266	114%
	2 in 8	143	133	108%
	1 in 8	75.6	66.6	114%
3	8 in 8	636	—	—
	4 in 8	304	318	96%
	2 in 8	156	159	98%
	1 in 8	80.2	79.5	101%
4	8 in 8	654	—	—
	4 in 8	319	327	98%
	2 in 8	171	164	104%
	1 in 8	81.9	81.8	100%
5	8 in 8	1137	—	—
	4 in 8	569	569	100%
	2 in 8	291	284	102%
	1 in 8	152	142	107%

Recovery (ng/dL)

	Solution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	—	58.4	—	—
	A	234	205	114%
	B	439	355	124%
	C	688	655	105%
2	—	227	—	—
	A	402	366	110%
	B	534	516	103%
	C	892	816	109%
3	—	326	—	—
	A	462	460	100%
	B	609	610	100%
	C	821	910	90%
4	—	446	—	—
	A	550	574	96%
	B	806	724	111%
	C	1076	1024	105%
5	—	829	—	—
	A	892	938	95%
	B	1160	1088	107%
	C	1416	1388	102%

Specificity

Compound[1]	ng/dL Added[2]	Apparent ng/dL[3]	% Cross-reactivity[4]
Aldosterone	800,000	21	0%
Androstenedione	10,000	65	0.6%
5α-Androstan-3β,17β-diol	100,000	548	0.5%
5α-Androstan-3,17-dione	100,000	31	0%
5-Androsten-3β,17β-diol	25,000	ND	ND
Cortisol	800,000	ND	ND
Cortisone	800,000	ND	ND
Danazol	20,000	ND	ND
Dexamethasone	800,000	ND	ND
DHEA	1,000,000	ND	ND
DHEA-SO_4	100,000	ND	ND
5α-Dihydro-testosterone	5000	99	2.0%
Estradiol	100,000	ND	ND
Estrone	50,000	ND	ND
Ethisterone	5000	ND	ND
Methyltestosterone	3000	21	0.7%
Norethindrone	5000	ND	ND
Norethyrodrel	5000	ND	ND
Prednisone	80,000	ND	ND
Progesterone	100,000	56	0.1%
Triamicinolone	5000	ND	ND

ND: not detectable[5]

Lipemia

	Triglycerides Added[1] (mg/dL)	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	—	445	—	—
	500	420	434	97%
	1000	387	423	91%
	2000	388	401	97%
	3000	312	378	83%
2	—	545	—	—
	500	540	532	102%
	1000	463	518	89%
	2000	475	491	97%
	3000	364	463	79%
3	—	595	—	—
	500	600	580	103%
	1000	573	565	101%
	2000	528	536	99%
	3000	461	506	91%
4	—	598	—	—
	500	595	583	102%
	1000	585	568	103%
	2000	551	538	102%
	3000	485	509	95%
5	—	944	—	—
	500	857	920	93%
	1000	801	897	89%
	2000	742	850	87%
	3000	649	802	81%

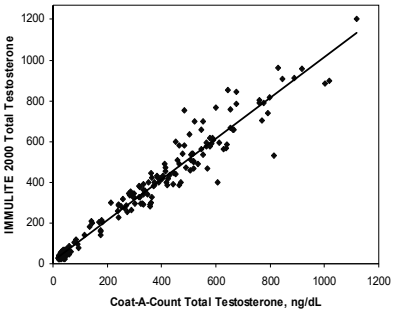
Bilirubin

		Conjugated[1]		Unconjugated[2]	
	Unspiked[3]	100 mg/L	200 mg/L	100 mg/L	200 mg/L
1	445	471	519	478	461
2	545	568	615	556	564
3	595	673	731	745	669
4	598	691	719	667	720
5	944	972	974	889	926

Hemolysis

		Hemoglobin[1]		
	Unspiked[2]	135 mg/dL	270 mg/dL	540 mg/dL
1	445	440	429	400
2	545	571	538	493
3	595	633	589	535
4	598	639	590	558
5	944	886	868	760

Method Comparison



(IML 2000) = 1.00 (CAC) + 13.3 ng/dL
r = 0.976

Deutsch. **Precision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]SD (Standardabweichung), [5]CV (Variationskoeffizient). **Linearity**: [1]Verdünnung, [2]Beobachtet (B), [3]Erwartet (E), [4]% B/E, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Lösung, [2]Beobachtet (B), [3]Erwartet (E), [4]% B/E. **Specificity**: [1]Verbindung, [2]zugesetzte Menge, [3]% Kreuzreaktivität, [4]NN: Nicht nachweisbar. **Specificity**: [1]Verbindung, [2]zugesetzte Menge, [3]Gemessene Konzentration, [4]% Kreuzreaktivität, [5]NN: Nicht nachweisbar. **End-of-Run Effect**: [1]Röhrchen. **Effect of Bilirubin:** [1]Ohne Zugabe von. **Effect of Bilirubin:** [1]Bilirubin, [2]Ohne Zugabe von. **Effect of Bilirubin:** [1]Konjugiertes, [2]Unkonjugiertes, [3]Ohne Zugabe von. **Effect of Hemolysis:** [1]Hämoglobin, [2]Ohne Zugabe von. **Effect of Hemolysis:** [1]Erythrozytenkonzentrate, [2]Ohne Zugabe von. **Lipemia**: [1]zugesetzte Triglyceride, [2]Beobachtet (B), [3]Erwartet (E), [4]% B/E, [5]Ohne Zugabe von. **Effect of Bilirubin:** [1]Konjugiertes, [2]Unkonjugiertes, [3]Ohne Zugabe von. **Effect of Hemolysis:** [1]Hämoglobin, [2]Ohne Zugabe von. **Method Comparison**: Total Testosterone: Gesamt Testosteron.

Español. **Precision**: [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV. **Linearity**: [1] Dilución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 en 8. **Recovery**: [1]Solución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Specificity**: [1]Compuesto, [2] Cantidad añadida, [3]% Reacción cruzada, [4]ND: no detectable. **Specificity**: [1]Compuesto, [2]Cantidad añadida, [3]Concentración aparente, [4]% Reacción cruzada, [5]ND: no detectable. **End-of-Run Effect**: [1]Tubos. **Effect of Bilirubin:** [1]Sin añadir. **Effect of Bilirubin:** [1]Bilirubina, [2]Sin añadir. **Effect of Bilirubin:** [1]conjugada, [2]libre, [3]Sin añadir. **Effect of Hemolysis:** [1]Hemoglobina, [2]Sin añadir. **Effect of Hemolysis:** [1]Eritrocitos, [2]Sin añadir. **Lipemia**: [1]Triglicéridos añadida, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]Sin añadir. **Effect of Bilirubin:** [1]conjugada, [2]libre, [3]Sin añadir. **Effect of Hemolysis:** [1]Hemoglobina, [2]Sin añadir. **Method Comparison**: Total Testosterone: Testosterona Total.

Français. **Precision**: [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]SD, [5]CV. **Linearity**: [1]Dilution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A, [5]8 dans 8. **Recovery**: [1]Solution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A. **Specificity**: [1]Composé, [2]ajouté, [3]Réaction croisée%, [4]ND: non détectable. **Specificity**: [1]Composé, [2]ajouté, [3]Concentration apparente, [4]Réaction croisée %, [5]ND: non détectable. **End-of-Run Effect**: [1]Tubes. **Effect of Bilirubin:** [1]Non chargés. **Effect of Bilirubin:** [1]Bilirubine, [2]Non chargés. **Effect of Bilirubin:** [1]Conjuguée, [2]Non conjuguée, [3]Non chargés. **Effect of Hemolysis:** [1]Hémoglobine, [2]Non chargés. **Effect of Hemolysis:** [1]Hématocrite, [2]Non chargés. **Lipemia**: [1]Triglycérides ajouté, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A, [5]Non chargés. **Effect of Bilirubin:** [1]Conjuguée, [2]Non conjuguée, [3]Non chargés. **Effect of Hemolysis:** [1]Hémoglobine, [2]Non chargés. **Method Comparison**: Total Testosterone: Testostérone totale.

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity**: [1]Diluizione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A, [5]8 in 8. **Recovery**: [1]Soluzione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A. **Specificity**: [1]Composto, [2]quantità aggiunta, [3]Percentuale di Crossreattività, [4]ND: non determinabile. **Specificity**: [1]Composto, [2]quantità aggiunta, [3]Concentrazione apparente, [4]Percentuale di Crossreattività, [5]ND: non determinabile. **End-of-Run Effect**: [1]Provette. **Effect of Bilirubin:** [1]Semplice. **Effect of Bilirubin:** [1]Bilirubina, [2]Semplice. **Effect of Bilirubin:** [1]Coniugata, [2]Non coniugata, [3]Semplice. **Effect of Hemolysis:** [1]Emoglobina, [2]Semplice. **Effect of Hemolysis:** [1]Cellule rosse impatte, [2]Semplice. **Lipemia**: [1]Trigliceridi aggiunta, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A, [5]Semplice. **Effect of Bilirubin:** [1]Coniugata, [2]Non coniugata, [3]Semplice. **Effect of Hemolysis:** [1]Emoglobina, [2]Semplice. **Method Comparison**: Total Testosterone: Testosterone Totale.

Português. **Precision**: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação. **Linearity**: [1]Diluição, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]8 em 8. **Recovery**: [1]Solução, [2]Observado (O), [3]Esperado (E),

[4]%O/E. **Specificity**: [1]Composto, [2]Quantidade adicionada, [3]Percentagem de reacção cruzada, [4]ND: não detectável. **Specificity**: [1]Composto, [2]Quantidade adicionada, [3]Apparent Concentration, [4]Percentagem de reacção cruzada, [5]ND: não detectável. **End-of-Run Effect**: [1]Tubos. **Effect of Bilirubin:** [1]Não adicionada. **Effect of Bilirubin:** [1]Bilirubina, [2]Não adicionada. **Effect of Bilirubin:** [1]Conjugada, [2]Não conjugada, [3]Não adicionada. **Effect of Hemolysis:** [1]Hemoglobina, [2]Não adicionada. **Effect of Hemolysis:** [1]Hemáceas tamponizadas, [2]Não adicionada. **Lipemia**: [1]Trigliceridos adicionada, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]Não adicionada. **Effect of Bilirubin:** [1]Conjugada, [2]Não conjugada, [3]Não adicionada. **Effect of Hemolysis:** [1]Hemoglobina, [2]Não adicionada. **Method Comparison**: Total Testosterone: Testosterona Total.

Deutsch

IMMULITE 2000 Gesamt Testosteron

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme — zur quantitativen Messung von Testosteron im Serum und Heparin-Plasma, als Hilfe bei der Diagnose und beim Management von Testosteronmangel oder -überschuss.

Artikelnummern: **L2KTW2** (200 Tests), **L2KTW6** (600 Tests)

Testcode: **TES** Farbe: **dunkelgrün**

Klinische Relevanz

Beim Mann wird Testosteron hauptsächlich in den interstitiellen Leydig-Zellen des Hodens gebildet. Die Synthese wird durch das Interstitialzellen stimulierende Hormon (ICSH) oder Luteinisierende Hormon (LH, dem weiblichen Äquivalent des ICSH) der Hypophyse reguliert. Testosteron ist verantwortlich für die Entwicklung der männlichen sekundären Geschlechtsmerkmale, der akzessorischen Sexualorgane, der Prostata, Samenblase sowie für die Entwicklung der Gesichts-, Scham- und Achselbehaarung.

Die Bestimmung des Testosterons ist von Bedeutung bei der Beurteilung von Hypogonadismus. Erhöhte Testosteronspiegel können bei Männern mit Androgenresistenz gefunden werden (testikuläre Feminisierung).[9] Beim Mann können folgende Ursachen für erniedrigte Testosteronspiegel verantwortlich sein: Hypogonadismus, Orchidectomie, Östrogentherapie, Klinefelter Syndrom, Hypophysen-Unterfunktion und Leberzirrhose.

Bei Frauen werden normalerweise sehr viel niedrigere Testosteronspiegel als bei Männern gefunden. Bei Frauen stammt das Testosteron aus drei Quellen. Es wird in geringen Mengen von den Nebennieren und den Ovarien synthetisiert. Bei gesunden Frauen stammen 50–60% der täglichen Testosteron-Produktion von der Metabolisierung der Vorstufen und zwar hauptsächlich des Androstendions. Häufige Ursachen für erhöhte Testosteronspiegel bei Frauen sind Polyzystische Ovarien (Stein-Leventhal Syndrom), Ovariatumore, Nebennieren-tumore und Nebennierenhyperplasien. Virilisierungserscheinungen bei Frauen sind assoziiert mit Androgengaben und endogener Testosteronüberproduktion. Der Serum-Testosteronspiegel scheint mit dem Virilisierungsgrad bei Frauen zu korrelieren, obwohl 25% der Frauen mit unterschiedlich stark ausgeprägter Virilisierung einen Testosteronspiegel innerhalb des Referenzbereiches für Frauen haben.

Methodik

Der Gesamt-Testosteron – IMMULITE 2000-Test ist ein kompetitiver Festphasen-Chemilumineszenz-Immunoassay.

Inkubationszyklen: 1 × 60 Minuten
Zeit zum ersten Ergebnis: 65 Minuten

Probengewinnung

EDTA Röhrchen sollten nicht verwendet werden.

Lipämische oder stark kontaminierte Proben können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. 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 Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter 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 Gesamt-Testosteron ist nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 20 µl Serum oder Plasma

Lagerung: 7 Tage bei 2–8°C oder 2 Monate bei –20°C.[8]

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *in vitro*-Diagnostik.

VORSICHT! BIOLOGISCHES RISIKOMATERIAL
Enthält Material humanen Ursprungs. Alle Blutspenden oder Blutkomponenten menschlicher Herkunft wurden nach FDA-genehmigten Methoden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die HI-Viren Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2) sowie von Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und Antikörpern gegen den Hepatitis C-Virus (HCV) getestet. Die Testergebnisse waren negativ (nicht wiederholt reaktiv). Durch keinen Test kann das Vorhandensein dieser oder anderer infektiöser Stoffe vollständig ausgeschlossen werden. Dieses Material ist mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und gemäß der allgemein anerkannten guten Laborpraxis zu handhaben.[10-12]

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.

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 gewonnene 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.

Gesamt Testosteron Kugel-Container (L2TW12)
Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit Testosteron-Antikörpern (polyklonal, Kaninchen). Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.
L2KTW2: 1 Container
L2KTW6: 3 Container

Gesamt Testosteron Reagenzbehälter (L2TWA2)
Mit Barcode. 11,5 ml alkalische Phophatase, konjugiert mit Testosteron in Pufferlösung. Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.
L2KTW2: 1 Behälter
L2KTW6: 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.

Gesamt Testosteron Kalibratoren (LTWL, LTWH)
Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) mit 4,0 ml Testosteron in prozessiertem humanem Serum, mit Konservierungsmittel. 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KTW2: 1 Set
L2KTW6: 2 Sets

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Röhrchen kleben, so daß die Barcodes vom Barcodereader des Systems gelesen werden können.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

Multiverdünnung 1 (L2M1Z)
Zur on-board Verdünnung von Patientenproben hoher Konzentration. Ein Fläschchen konzentriertes (gebrauchsfertig) prozessiertes, normales Humanserum, mit Konservierungsmittel mit nicht-nachweisbarem Gehalt an Testosteron. 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2M1Z: 25 ml

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2M1Z: 3 Etiketten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße
L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm) für die Probenverdünnung
L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Teströhrchen; Kontrollen

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Verdünnung, Kalibration, Test- und Qualitätskontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
1 Woche

Qualitätskontrollseren: Jeweils gültige gesetzlichen Bestimmungen oder Akkreditierungsanforderungen sind bei der Festlegung der Intervalle zur Durchführung der Qualitätskontrollen zu berücksichtigen.

Kontrollen oder Poolseren mit Testosteron in mindestens zwei Konzentrationen (niedrig und hoch) verwenden.

Siemens Healthcare Diagnostics empfiehlt die Verwendung von kommerziell verfügbaren Qualitätskontrollen in mindestens 2 Konzentrationen (niedrig und hoch). Der Systembetrieb gilt dann als zufriedenstellend, wenn die Analytwerte

innerhalb des für das System zulässigen Kontrollbereichs oder des für die laborinternen Qualitätskontrollverfahren festgelegten zulässigen Bereichs liegen.

Referenzwerte

Zur Bestimmung der Testosteron-Referenzbereiche für Männer und nicht schwangere Frauen wurden insgesamt 186 Serumproben von gesund erscheinenden erwachsenen Männern und Frauen entnommen. Alle Proben wurden mit dem IMMULITE 2000 Gesamt Testosteron-Verfahren getestet, und es wurden die im Folgenden aufgeführten Ergebnisse erzielt.

	n	Median (ng/dl)	95% Bereich	Absolut-Bereich
Frauen				
Ovulation	40	25	ND–73	ND–73
Post-menopause	28	26	ND–43	ND–43
Männer				
20–49 Jahre	95	323	160–726	72–853
≥ 50 Jahre	23	317	129–767	129–767

NN: Nicht nachweisbar

Diese Grenzwerte sind lediglich als *Richtlinien* aufzufassen. Jedes Labor sollte seine eigenen Referenzbereiche etablieren.

Grenzen der Methode

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/dl ausgedrückt. (Alle Daten wurden — sofern nicht anders angegeben — aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Umrechnungsfaktor:
ng/dl x 0,03467 → nmol/l

Messbereich: 20–1600 ng/dl (0,7–55 nmol/L)

Die Methode ist rückführbar auf einen internen Standard, der mittels qualifizierter Materialien und Messmethoden hergestellt wurde.

Analytische Sensitivität: 15 ng/dl (0,5 nmol/L)

Präzision: Proben wurden innerhalb von 5 Tagen mit jeweils zwei Testansätzen gemessen (insgesamt 10 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 Testosteron (3000, 6000 und 12 000 ng/dl) Lösungen 1:19 versetzt. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Recovery“.)

Spezifität: Hochspezifischer Anti-Testosteron -Antikörper (siehe Tabelle „Specifity“).

Bilirubin: Kann zur Erhöhung der Werte führen. (siehe Tabelle „Bilirubin“).

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 270 mg/dl offensichtlich keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist. (Siehe Tabelle „Hemolysis“.)

Lipämie: Triglyceride in Konzentrationen über 500 mg/dl kann sich auf die Testergebnisse auswirken. (Siehe Tabelle „Lipemia”.)

Alternative Probenarten: Um den Einfluss von alternativen Probentypen zu überprüfen, wurde 17 Freiwilligen Blut in Röhrchen ohne Zusatz, Heparin-Röhrchen, EDTA-Röhrchen und Trenngel-

Röhrchen (SST) entnommen. Alle Röhrchen waren von Becton Dickinson. Alle Proben wurden mit dem IMMULITE 2000 Gesamt Testosteron Assay bestimmt.

(EDTA Plastik) = 1,78 (Serum Plastik) + 47 ng/dl
r = 0,981

(Na Heparin Plastik) = 0,89 (Serum Plastik) + 2,3 ng/dl
r = 0,977

(SST Plastik) = 0,96 (Serum Plastik) + 4,0 ng/dl
r = 0,976

Mittelwerte:
296 ng/dl (Serum Plastik)
266 ng/dl (Na Heparin Plastik)
575 ng/dl (EDTA Plastik)
288 ng/dl (SST Plastik)

EDTA Plasma ist zur Verwendung nicht geeignet. Natrium Heparin verursacht eine Erniedrigung der Werte.

Methodenvergleich: Der IMMULITE 2000 Gesamt Testosteron Assay wurde unter Verwendung von 197 Patientenproben mit Coat-A-Count Gesamt Testosteron verglichen. (Konzentrationsbereich ca. 20–1200 ng/dl. Siehe Grafik.) Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 1,00 (CAC) + 13,3 ng/dl
r = 0,976

Mittelwerte:
326 ng/dl (IMMULITE 2000)
312 ng/dl (Coat-A-Count)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

Testosterona Total IMMULITE 2000

Utilidad del análisis: Para su uso en el diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE 2000 — para la medición cuantitativa de Testosterona total en suero y en plasma heparinizado. Está estrictamente indicado para su uso en diagnóstico *in vitro* como ayuda en el diagnóstico y seguimiento de las patologías con exceso o defecto de este andrógeno.

Referencia: **L2KTW2** (200 tests), **L2KTW6** (600 tests)

Código del Test: **TES**
Código de Color: **Verde obscuro**

Resumen y Explicación del Test

En los hombres, la testosterona se sintetiza principalmente en las células intersticiales de Leydig en los testículos, y está regulado por la hormona estimulante de las células intersticiales (ICSH), o por la hormona luteinizante (LH) de la pituitaria anterior (el equivalente femenino a la ICSH). La testosterona es la responsable del desarrollo de los caracteres sexuales secundarios, como los órganos sexuales accesorios, la próstata, las vesículas seminales y el crecimiento del vello facial axilar y púbico. Las determinaciones de testosterona son muy útiles en la evaluación de los estadíos hipogonadales. Niveles elevados de testosterona en los hombres se pueden observar en la resistencia androgénica completa (feminización testicular) [9]. Las razones más comunes de niveles bajos de testosterona en hombres son: hipogonadismo, orquidectomía, terapia con estrógenos, síndrome de Klinefelter, hipopituitarismo, y cirrosis hepatica.

En las mujeres, los niveles de testosterona son normalmente muchos más bajos que los encontrados en los hombres sanos. La testosterona en las mujeres procede de tres fuentes. Es secretada en pequeña cantidad por las glándulas adrenales y los ovarios, y en las mujeres sanas el 50–60% de la producción diaria de testosterona se debe al metabolismo periférico de prehormonas, principalmente la androstenediona. Las causas más communes de niveles elevados de testosterona en mujeres son ovarios poliquísticos (síndrome de Stein-Leventhal), tumores ováricos, tumores adrenales e hiperplasia adrenal. La virilización en las mujeres está asociada con la administración de andrógenos y la sobreproducción endógena de testosterona. Parece que hay una

correlación entre los niveles séricos de testosterona y el grado de virilización en las mujeres, aunque aproximadamente el 25% de las mujeres con diferentes grados de virilización poseen niveles séricos de testosterona dentro de los valores normales femeninos.

Principio del análisis

El IMMULITE 2000 Testosterona Total es un inmunoensayo enzimático quimioluminiscente competitivo en fase sólida.

Ciclos de incubación: 1 × 60 minutos
Tiempo hasta el primer resultado: 65 minutos

Recogida de la muestra

Tubos con EDTA no deberia ser usado con el procedimeinto Testosterona total IMMULITE 2000.

Las muestras lipémicas o ampliamente contaminadas pueden dar resultados erróneos. Se recomienda ultracentrífugar 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 centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El Testosterona Total 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 de suero o plasma

Conservación: 7 días a 2–8°C o 2 meses a –20°C[8].

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

¡PRECAUCIÓN! RIESGO BIOLÓGICO POTENCIAL
Contiene material de origen humano. Cada donación de sangre humana o componente sanguíneo ha sido probada por métodos aprobados por la FDA con el fin de detectar la presencia de anticuerpos de los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2), así como el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y el anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (VHC). Los resultados de estas pruebas fueron negativos (no repetidamente reactivos). Ninguna prueba ofrece total garantía de que en las muestras no haya estos agentes infecciosos u otros; por tanto, este material se deberá manipular conforme a las prácticas recomendables de laboratorio y las precauciones universales.[10-12]

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.

Reactivos: Mantener a 2–8°C. Desechar de acuerdo con las normas aplicables.

Seguir las precauciones universales y manipular 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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las canerias de cobre y plomo.

Sustrato quimioluminiscente: evite la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

Agua: Use 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 Testosterona Total (L2TW12)
Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpos policlonales de conejo anti-Testosterona. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KTW2: 1 cartucho
L2KTW6: 3 cartuchos

Vial de reactivo de Testosterona Total (L2TWA2)
Con códigos de barras. 11,5 ml fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con Testosterona en solución tampón. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KTW2: 1 vial
L2KTW6: 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 Testosterona Total (LTWL, LTWH)
Dos viales (bajo y alto), 4,0 ml de Testosterona en suero humano tratado, con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KTW2: 1 juego
L2KTW6: 2 juegos

Antes de hacer un ajuste, colocar las etiquetas a las alícuotas apropiadas (suministradas con el kit) sobre tubos de ensayo, de forma tal que los códigos de barras puedan ser leídos por el lector.

Componentes del kit que se suministran por separado

Multidiluyente 1 (L2M1Z)
Para la dilución de muestras de pacientes de alta concentración dentro del equipo. Un vial de un concentrado de suero humano normal, con conservante (listo para su uso) con niveles indetectables de testosterona. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2M1Z: 25 ml

Se suministran etiquetas con códigos de barras para usarse con este diluyente. Antes de uso, colocar la etiqueta con el código de barras en un tubo de ensayo de 16 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2M1Z: 3 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 × 100 mm)
L2ZC: 250 Casquillos Del Tubo Del Diluyente De la Muestra

También necesarios
Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles

Ensayo

Aviso: para obtener un funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:
1 semana

Muestras de Control de calidad: Seguir las reglamentaciones gubernamentales o los requisitos de acreditación para conocer la frecuencia de control de calidad.

Use controles o pools de muestrasro con dos niveles diferentes, como mínimo, de Testosterone (bajo y alto).

Siemens Healthcare Diagnostics recomienda el uso de materiales de control de calidad comercializados con al menos 2 niveles (bajo y alto). Un nivel de funcionamiento satisfactorio se consigue

cuando los valores obtenidos del analito están dentro del rango de control aceptable para el sistema, o dentro del rango establecido determinado por un programa adecuado de control de calidad interno de laboratorio.

Valores esperados

Para determinar los rangos de referencia de hombres y mujeres no gestantes para testosterona, se recogieron un total de 186 muestras de suero procedentes de hombres y mujeres adultos aparentemente sanos. Todas las muestras se analizaron mediante el procedimiento Testosterona total del sistema IMMULITE 2000, con los resultados que se enumeran más adelante.

	n	Mediana (ng/dl)	Rango 95% central	Intervalo absoluto
Mujeres				
Ovulando	40	25	ND–73	ND–73
Postmeno-páusicas	28	26	ND–43	ND–43
Hombres				
20–49 años	95	323	160–726	72–853
≥ 50 años	23	317	129–767	129–767

ND: no detectable

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/dl. (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/dl × 0,03467 → nmol/l

Intervalo de calibración:
20–1600 ng/dl (0,7–55 nmol/l)

El ensayo es trazable a un estándar interno fabricado usando procedimientos de medida y materiales cualificados.

Sensibilidad: 15 ng/dl (0,5 nmol/l)

Precisión: Las muestras fueron procesadas durante 5 días, en dos tandas de trabajo por día, para un total de 10 tandas y 80 replicados. (Ver la tabla "Precision".)

Linealidad: las muestras fueron analizadas con varias diluciones. (Ver la tabla "Linealidad" para resultados representativos).

Recuperación: Se han analizado las muestras cargadas 1 a 19 con tres soluciones de testosterona (3000, 6000 y 12 000 ng/dl). (Ver la tabla "Recuperación" para resultados representativos.)

Especificidad: El anticuerpo es altamente específico para Testosterona. (Ver la tabla "Especificidad".)

Bilirrubina: Puede causar una elevación de los valores. (Ver la tabla "Bilirubin".)

Hemolisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 270 mg/dl, no tienen ningún efecto evidente sobre los resultados en términos de precisión. (Ver la tabla "Hemolysis".)

Lipemia: La presencia de triglicéridos, en concentraciones superiores a 500 mg/dl, puede interferir con el ensayo. (Ver la tabla de "Lipemia".)

Tipo de Muestra Alternativa: Para ver el efecto de muestras alternativas, se recogieron muestras sanguíneas de 17 voluntarios en tubos de plástico, de plástico heparinizados, tubos con EDTA y tubos con geles de barrera (SST®). Todos los tubos eran de la casa Becton Dickinson. Todas las muestras se ensayo de Testosterona Total de IMMULITE 2000.

(EDTA Plástico) = 1,78 (Suero Plástico) + 47 ng/dl
r = 0,981

(Heparina Na Plástico) = 0,89 (Suero Plástico) + 2,3 ng/dl
r = 0,977

(SST Plástico) = 0,96 (Suero Plástico) + 4,0 ng/dl
r = 0,976

Medias:
296 ng/dl (Suero Plástico)
266 ng/dl (Heparina Na Plástico)
575 ng/dl (EDTA Plástico)
288 ng/dl (SST Plástico)

El plasma EDTA no es apropiado para su uso. Heparina sodica causa una bajada de los valores.

Comparación de los métodos: El ensayo IMMULITE 2000 Testosterona Total se ha comparado con el Testosterona Total Coat-A-Count en 197 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente 20 a 1200 ng/dl. Ver el gráfico). Por regresión lineal:

(IML 2000) = 1,00 (CAC) + 13,3 ng/dl
r = 0,976

Medias:
326 ng/dl (IMMULITE 2000)
312 ng/dl (Coat-A-Count)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

IMMULITE 2000 Testostérone Totale

Domaine d'utilisation : dosage quantitatif de la testostérone dans le sérum et le plasma hépariné. Ce test est réservé à un usage *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000 et constitue une aide au diagnostic dans les pathologies dont l'origine est due à un excès ou à une déficience de cet androgène.

Référence catalogue :
L2KTW2 (200 tests), **L2KTW6** (600 tests)

Code produit : **TES**
Code couleur : **vert foncé**

Introduction

Chez l'homme, la testostérone est principalement synthétisée dans les cellules de Leydig du testicule et sa régulation est assurée par une hormone stimulante (ICSH) ou l'hormone lutéinisante (LH) sécrété par l'hypophyse (l'équivalent chez la femme de la ICSH). La testostérone est responsable du développement des caractères sexuels secondaires, tels que les organes sexuels secondaires comme la prostate, les vésicules séminales et le développement de la pilosité du visage et du pubis. Les dosages de testostérone ont été extrêmement utiles dans l'évaluation de l'hypogonadisme. Des taux augmentés de testostérone chez les hommes peuvent être trouvés dans des cas de résistance aux androgènes (féminisation).[9] Les causes les plus fréquentes d'une baisse du taux de testostérone chez les hommes sont : l'hypogonadisme, l'orchidectomie, les traitements oestrogèniques, le syndrome de Klinefelter, l'hypopituitarisme et la cirrhose hépatique.

Chez la femme, les taux de testostérone sont normalement beaucoup plus bas que ceux mesurés chez un homme sain. La testostérone chez la femme provient de trois origines principales. Elle est sécrétée en faible quantité à la fois par les glandes surrénales et les ovaires, et chez la femme en bonne santé 50 à 60 % de la sécrétion journalière de testostérone

s'effectue à partir du métabolisme périphérique de prohormones, principalement l'androsténedione. Les causes les plus fréquentes d'une augmentation du taux de testostérone chez la femme comprennent le syndrome des ovaires polykystiques (syndrome de Stein-Leventhal), les tumeurs ovariennes, les tumeurs surrénaliennes et les hyperplasies surrénaliennes. La virilisation observée chez les patientes est associée à la prise d'androgènes et à une surproduction endogène de testostérone. Il existe une corrélation entre les taux de testostérone sériques et le degré de virilisation observé chez la patiente, bien qu'environ 25 % des femmes présentant différents degrés de virilisation aient des taux de testostérone contenus dans le domaine de normalité de la méthode.

Principe du test

IMMULITE 2000 Testostérone Totale est un dosage immunoenzymatique chimiluminescent par compétition en phase solide.

Cycles d'incubation : 1 × 60 minutes
Temps de rendu du premier résultat : 65 minutes

Recueil des échantillons

Les tubes EDTA ne doivent pas être utilisés avec le dosage IMMULITE 2000 Testostérone Totale.

Des échantillons lipémiques ou fortement contaminés peuvent donner des résultats érronés. Il est recommander de clarifier les échantillons lipémiques 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 dûs 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 Testostérone Totale 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 ou plasma

Conditions de conservation : 7 jours à 2–8°C ou 2 mois à –20°C.[8]

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.



AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL
Contient du matériel d'origine humaine. Chaque don de sang ou de composant sanguin humain a été testé selon des méthodes homologuées par la FDA afin de détecter la présence d'anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2), ainsi que la présence d'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) et d'anticorps anti-virus de l'hépatite C (VHC). Les résultats de ces tests se sont révélés négatifs (ou positifs mais de façon non répétable). Aucun test ne peut garantir totalement l'absence d'agents infectieux tels que ceux-ci ou d'autres. Par conséquent, ce matériel doit être manipulé conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux précautions universelles.[10-12]

ATTENTION : Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.

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 toute contamination 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 Testostérone Totale (L2TW12)
Avec code-barres. 200 billes revêtues d'anticorps polyclonal de lapin anti-testostérone. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KTW2 : 1 cartouche
L2KTW6 : 3 cartouches

Cartouche à réactif Testostérone Totale (L2TWA2)
Avec code-barres. 11,5 ml de testostérone marqué à la phosphatase alcaline (provenant des intestins de veau) dans un tampon. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KTW2 : 1 cartouche
L2KTW6 : 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 Testostérone Totale (LTWL, LTWH)
2 flacons d'ajusteurs (« bas » et « haut ») contenant chacun 4,0 ml de testostérone dans du sérum humain prétraité avec conservateur. Stable à 2–8°C 30 jours après ouverture ou à –20°C pendant 6 mois (aliquoté).
L2KTW2 : 1 jeu
L2KTW6 : 2 jeux

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

Composants du coffret fournis séparément

Multi-Diluant 1 (L2M1Z)
Pour la dilution à bord des échantillons de patients de concentration élevée. Un flacon de sérum humain normal, avec conservateur, concentré (prêt à l'emploi) contenant des taux indétectables ou très faibles de Testostérone. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20 °C.
L2M1Z : 25 ml

Les étiquettes à code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16x100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2M1Z : 3 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 × 100 mm)
L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

Egalement requis
Eau distillée ou désionisée ; tubes ; contrôles

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000.

Voir le Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000 pour la préparation, le démarrage du système, la dilution, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé : 1 semaine

Echantillons pour le contrôle de qualité
Suivre les réglementations gouvernementales et les exigences relatives aux accréditations en matière de fréquence de contrôle qualité.

Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) de testostérone totale.

Siemens Healthcare Diagnostics recommande d'utiliser des échantillons de contrôle de qualité en vente dans le commerce et comprenant au moins 2 niveaux (bas et haut). Un niveau de performance satisfaisant est atteint lorsque les valeurs d'analyte obtenues se situent dans l'intervalle de contrôle acceptable du système ou dans un intervalle déterminé par un schéma de contrôle de qualité approprié interne au laboratoire.

Valeurs attendues

Un total de 186 échantillons de sérum ont été prélevés sur des hommes et des femmes adultes apparemment en bonne santé afin de déterminer les intervalles de référence de testostérone pour les hommes et les femmes non enceintes. Tous les échantillons ont été dosés avec le protocole IMMULITE 2000 Testostérone totale et ont donné les résultats indiqués dans le tableau ci-dessous.

	n	Médiane (ng/dl)	Centré à 95 %	Dom absolu
Femmes				
Menstruées	40	25	ND–73	ND–73
Postméno-pausées	28	26	ND–43	ND–43
Hommes				
20–49 ans	95	323	160–726	72–853
≥ 50 ans	23	317	129–767	129–767

ND : non détectable

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 rares sérums et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en ng/dl. (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.)

Facteur de conversion :
ng/dl x 0,03467 → nmol/l

Domaine de mesure : 20–1600 ng/dl (0,7–55 nmol/l)

Le dosage peut être retracé à un standard interne, manufacturé à l'aide de matériaux et procédures de mensuration qualifiées.

Sensibilité analytique : 15 ng/dl (0,5 nmol/l)

Précision : les échantillons sont dosés sur une période qui s'étend sur 5 jours, avec deux séries par jours, soit 10 séries et 80 replicata au total. (Voir le tableau « Precision ».)

Linéarité : 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 de testostérone (3000, 6000 et 12 000 ng/dl). (Voir le tableau " Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : Le test est hautement spécifique de la testostérone. (Voir le tableau « Specificity ».)

Bilirubine : Peut causer une élévation des valeurs. (Voir le tableau « Bilirubin ».)

Hémolyse : La présence d'hémoglobine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 270 mg/dl. (Voir le tableau « Hemolysis ».)

Lipémie : La présence de triglycérides si la concentration supérieures à 500 mg/dl pourra interférer avec le dosage. (Voir le tableau « Lipémie ».)

Autre type d'échantillon : Afin de déterminer l'effet que peuvent avoir d'autres typesde prélèvements du sang de 17 volontaires a été prélevé sur tubes sériques secs en plastique, sur tubes héparinés en plastique, sur tubes EDTA et sur tubes en plastique avec barrière de gel (SST®) provenant tous de chez Becton Dickinson. Chaque échantillon a été testé avec les dosage IMMULITE 2000 Testostérone Totale.

(EDTA, plastique) = 1,78 (Sérum, plastique) + 47 ng/dl
r = 0,981

(Na Héparine, plastique) = 0,89 (Sérum, plastique) + 2,3 ng/dl
r = 0,977

(SST, plastique) = 0,96 (Sérum, plastique) + 4,0 ng/dl
r = 0,976

Moyennes :
296 ng/dl (Sérum, plastique)
266 ng/dl (Na Héparine, plastique)
575 ng/dl (EDTA, plastique)
288 ng/dl (SST, plastique)

Il n'est pas recommandé d'utiliser du plasma EDTA. L'héparinate de sodium engendRE une baisse des valeurs.

Comparaison de méthode : Le test IMMULITE 2000 Testostérone Totale a été comparé au test RIA Coat-A-Count Testostérone Totale sur 197 échantillons (dont les concentrations allaient d'environ 20 à 1200 ng/dl. Voir graphique.)
Par régression linéaire :

(IML 2000) = 1,00 (CAC) + 13,3 ng/dl
r = 0,976

Moyennes :
326 ng/dl (IMMULITE 2000)
312 ng/dl (Coat-A-Count)

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

Le Système Qualité de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. est certifié ISO 13485.

Italiano

IMMULITE 2000 Testosterone Totale

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa del testosterone nel siero e nel plasma eparinizzato, quale ausilio nella diagnosi e nella gestione delle condizioni in cui esiste un eccesso o una deficienza di questo ormone androgeno.

Codice: **L2KTW2** (200 test),
L2KTW6 (600 test)

Codice del Test: **TES** Colore: **verde scuro**

Riassunto e Spiegazione del Test

Nel maschio, il testosterone è principalmente sintetizzato nelle cellule Leydig interstiziali dei testicoli, e viene regolato dall'ormone stimolante della cellula interstiziale (ICSH), o ormone luteinizzante (LH) dell'ipofisi anteriore (l'equivalente femminile dell'ICSH). Il testosterone è responsabile dello sviluppo delle caratteristiche sessuali secondarie, come gli organi sessuali accessori, la prostata, le vescicole seminali, e la crescita della barba, dei peli del pube e delle ascelle. Il dosaggio del testosterone si è rivelato molto utile nella valutazione degli stati di ipogonadismo. Livelli di testosterone elevati nei maschi possono essere riscontrati nella resistenza androgenica completa (feminilizzazione testicolare).[9] Le cause comuni di livelli di testosterone soppressi includono: l'ipogonadismo, l'orchidectomia, la terapia con estrogeni, la sindrome di Klinefelter, l'ipopituitarismo, e la cirrosi epatica.

Nelle donne, i livelli di testosterone sono di solito molto inferiori a quelli riscontrati negli uomini sani. Il testosterone nella donna proviene da tre fonti: viene espulso

in piccole quantità dalla ghiandole surrenaliche e dalla ovaie, e nelle donne sane il 50–60% della produzione quotidiana di testosterone è il risultato del metabolismo periferico dei preormoni, principalmente dell'androstenedione. Le cause comuni di livelli di testosterone sierico elevati nelle donne includono l'ovaio policistico (sindrome di Stein-Leventhal), tumori ovarici, tumori delle ghiandole surrenaliche ed iperplasia surrenalica. La virilizzazione nelle donne è associata alla somministrazione di adrogeni ed alla sovrapproduzione endogena di testosterone. Sembra esistere una correlazione tra livelli di testosterone nel siero ed il grado di virilizzazione nelle donne, benchè circa il 25% delle donne con vari gradi di virilismo abbia livelli di testosterone nel siero che rientrano nel range di riferimento previsto per le donne.

Principio del Dosaggio

Il dosaggio IMMULITE 2000 Testosterone Totale é un dosaggio immunoenzimatico chemiluninescente in fase solida.

Cicli d'incubazione: 1 × 60 minuti
Tempo al Primo Risultato: 65 minuti

Prelievo dei Campioni

L'uso di **provette EDTA** dovrebbe essere evitato nel test IMMULITE 2000 Testosterone Totale

Campioni lipemici o grossolanamente contaminati possono produrre risultati errati. Si consiglia l'utilizzo di un'ultricentrifuga per eliminare i campioni lipemici.

Campioni emolizzati possono indicare un trattamento non idoneo del campione prima dell'arrivo al laboratorio; per questo motivo, i risultati devono essere interpretati con prudenza.

La centrifugazione dei campioni di siero prima che la coagulazione sia completa può produrre fibrina. Per evitare risultati errati dovuti alla presenza di fibrina, assicurarsi che il processo di coagulazione sia completo prima di centrifugare i campioni. Alcuni campioni, in modo particolare quelli di pazienti sottoposti a terapia con anticoagulanti, possono richiedere tempi di coagulazione più lunghi.

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. Il dosaggio IMMULITE 2000 Testosterone Totale non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante i Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume richiesto: 20 µL di siero o plasma

Conservazione: 7 giorni a 2–8°C o 2 mesi a –20°C.[8]

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.



ATTENZIONE! POTENZIALE PERICOLO BIOLOGICO
Contiene materiale di origine umana. Ciascuna donazione di sangue o componenti ematici umani è stata testata con metodi approvati dalla FDA per rilevare la presenza di anticorpi al virus dell'immunodeficienza umana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2), nonché per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e gli anticorpi al virus dell'epatite C (HCV). I risultati del test sono stati negativi (non ripetutamente reattivi). Nessun test offre assicurazione completa che questi o altri agenti infettivi siano assenti; questo materiale va trattato utilizzando le corrette prassi di laboratorio e le precauzioni universali.[10-12]

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale portatore e trasmettitore di agenti patogeni.

Reagenti: Conservare i reagenti a 2–8°C. Eliminare in conformità alle leggi vigenti.

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati da sangue umano sono stati testati con esito negativo per la sifilide, gli anticorpi anti-HIV 1 e 2, 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 unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

Contenitore di Sferette Testosterone Totale (L2TW12)
Con codice a barre. 200 sferette coattate con un anticorpo policlonale di coniglio anti-testosterone. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KTW2: 1 confezione
L2KTW6: 3 confezioni

Porta Reagente Testosterone Totale (L2TWA2)
Con codice a barre. 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con testosterone in un tampone. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KTW2: 1 porta reagente
L2KTW6: 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.

Calibratori Testosterone Totale (LTWL, LTWH)
Due flaconi (Basso ed Alto), 4,0 mL ciascuno, di Testosterone in siero umano processato, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KTW2: 1 set **L2KTW6:** 2 set

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste sulle provette delle aliquote (fornite col kit) cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore.

Componenti del kit forniti separatamente

Multidiluente 1 (L2M1Z)
Per la diluizione interna dei campioni di pazienti ad elevata concentrazione. Una provetta di siero umano normale (con conservanti) processato, concentrato (pronto all'uso), contenente livelli da non rilevabili a bassi di testosterone. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2M1Z: 25 mL

Vengono fornite le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm cosicchè i codici a barre possano essere letti dal lettore interno
L2M1Z: 3 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 × 100 mm) per Diluente del Campione
L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluente del Campione

Materiali richiesti
Acqua distillata o deionizzata; provette di vetro; controlli

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 1 settimana

Controllo di Qualità: Per la frequenza del controllo di qualità seguire le normative in vigore o i requisiti di accreditamento.

Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (alto e basso) di testosterone.

Siemens Healthcare Diagnostics consiglia l'utilizzo di materiali di controllo della qualità disponibili in commercio con almeno 2 livelli (bassi e alti). Un livello soddisfacente di prestazioni si raggiunge quando i valori dell'analita ottenuti rientrano nei range di accettabilità del Controllo per il sistema o nei range stabiliti all'interno del laboratorio attraverso un programma appropriato di valutazione del controllo di qualità.

Valori Attesi

Per determinare i range di riferimento del testosterone per uomini e donne non in gravidanza, è stato raccolto un totale di 186 campioni di siero da soggetti, di sesso maschile e femminile, adulti e apparentemente sani. Tutti i campioni sono stati dosati secondo la procedura IMMULITE 2000 Testosterone totale, con i risultati tabulati nel seguito.

	n	Valore Mediano (ng/dL)	Range centrale 95%	Range assoluto
Donne				
Con ovulazione	40	25	ND–73	ND–73
Post-menopausa	28	26	ND–43	ND–43
Uomini				
20–49 anni	95	323	160–726	72–853
≥ 50 anni	23	317	129–767	129–767

ND: non determinable

Considerare questi limiti soltanto come *linee guida*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

Limiti

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 dati *rappresentativi* delle prestazioni del dosaggio. I risultati sono espressi in ng/dL. (Se non diversamente annotato, 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/dL × 0,03467 → nmol/L

Range di Calibrazione: 20–1600 ng/dL (0,7–55 nmol/L)

Il dosaggio è standardizzato verso uno standard interno preparato usato con materiali e secondo procedure di qualità.

Sensibilità Analitica: 15 ng/dL (0,5 nmol/L)

Precisione: I campioni sono stati elaborati in 5 giorni, due sedute al giorno, per un totale di 10 sedute ed 80 replicati. (Vedi tabella "Precision".)

Linearità: Sono stati dosati campioni in varie forme diluite. (Vedi Tabella "Linearity" per dati rappresentativi.)

Recupero: Sono stati dosati campioni 1:19 ai quali sono state aggiunte tre soluzioni di testosterone totale (3000, 6000 e 12 000 ng/dL). (Vedi Tabella "Recovery" per dati rappresentativi.)

Specificità: L'anticorpo è molto specifico per il testosterone. (Vedi Tabella "Specificity".)

Bilirubina: può causare un'elevazione di valori. (Vedi Tabella "Bilirubin".)

Emolisi: La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 270 mg/dL non ha nessun effetto apparente sui risultati entro il range di precisione del dosaggio. (Vedi Tabella "Hemolysis".)

Lipemia: La presenza di trigliceridi in concentrazioni superiori a 500 mg/dL potrebbe interferire con il dosaggio. (Vedi tabella "Lipemia".)

Tipo di Campione Alternativo: Per valutare l' effetto di campioni alternativi, é stato raccolto del sangue proveniente da 17 volontari in semplici provette di plastica, di plastica eparinizzata, EDTA e di plastica a barriera di gel (SST®). Tutte le provette erano Becton Dickinson. Tutti i campioni sono stati dosati mediante il test Testosterone Totale IMMULITE 2000.

(Plastica EDTA) = 1,78 (Plastica per Siero) + 47 ng/dL
r = 0,981

(Plastica Eparina sodica) = 0,89 (Plastica per Siero) + 2,3 ng/dL
r = 0,977

(Plastica SST) = 0,96 (Plastica per Siero) + 4,0 ng/dL
r = 0,976

Valore medio:
296 ng/dL (Plastica per Siero)
266 ng/dL (Plastica Eparina sodica)
575 ng/dL (Plastica EDTA)
288 ng/dL (Plastica SST)

Non utilizzare plasma EDTA. L'eparina sodica causa una depressione dei valori.

Comparazione di Metodi: Il dosaggio Testosterone Totale IMMULITE 2000 è stato comparato al dosaggio Testosterone Totale Coat-A-Count in 197 campioni. (Range di concentrazione: da 20 fino a 1200 ng/dL. Vedi grafico.) Con regressione lineare:

(IML 2000) = 1,00 (CAC) + 13,3 ng/dL
r = 0,976

Valore medio:
326 ng/dL (IMMULITE 2000)
312 ng/dL (Coat-A-Count)

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore Nazionale.

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

IMMULITE 2000 Testosterona Total

Utilização: Para a medição quantitativa da testosterona no soro e plasma heparinizado, no controlo e diagnóstico de condições relativas ao excesso ou deficiência deste androgénio, em conjunto com os Analisadores dos Sistemas IMMULITE 2000.

Números de catálogo:
L2KTW2 (200 testes),
L2KTW6 (600 testes)

Código do teste: **TES** Cor: **Verde escuro**

Sumário e explicação do teste

No homem, a testosterona é sintetizada principalmente nas células intersticiais de Leydig no testículo, e é regulada pela hormona estimuladora de células intersticiais (ICSH), ou hormona luteinizante (LH) da pituitária anterior (a forma feminina equivalente da ICSH). A testosterona é responsável pelo desenvolvimento de características sexuais secundárias, como orgãos sexuais acessórios, próstata, vesículas seminais e crescimento de pêlos faciais, púbicos e axilares. Os doseamentos de testosterona têm sido muito úteis na avaliação de estados hipogonádicos. Níveis elevados de testosterona em homens podem ser encontrados em resistência androgena completa (feminização testicular)[9]. Causas comuns de níveis diminuídos de testosterona em homens incluem: hipogonadismo, orquidectomia, terapia de estrogénios, sindrome de Klinefelter, hipopituitarismo, e cirrose hepática.

Na mulher, os níveis de testosterona são normalmente muito inferiores aos encontrados num homem saudável. A testosterona na mulher é proveniente de três fontes. È segregada em pequenas quantidades tanto pelas glândulas adrenais como pelos ovários, e em mulheres saudáveis 50–60% da produção diária de testosterona provém do metabolismo periférico de pré-hormonas, principalmente, androstenediona. Causas comuns de aumento no nível de

testosterona no soro em mulheres incluem--ovários poliquísticos (síndrome de Stein-Leventhal), tumores ováricos, tumores adrenais e hiperplasia adrenal. A virilização em mulheres é associada com a administração de androgénios e a superprodução endógena de testosterona. Parece existir uma correlação entre os níveis de testosterona no soro e o grau de virilização na mulher, embora aproximadamente 25% das mulheres com diversos graus de virilidade possuam níveis de testosterona no soro dentro dos valores de referência feminina.

Princípio do procedimento

O IMMULITE 2000 Testosterona Total é um imunoensaio competitivo de fase sólida, de enzimas quimico-luminosas.

Ciclos de incubação: 1 × 60 minutos
Tempo para o Primeiro Resultado: 65 minutos

Colheita

Tubos com EDTA não devem ser utilizados no procedimento IMMULITE 2000 Testosterona Total.

Amostras lipémicas ou totalmente contaminadas podem causar resultados errados. Uma ultracentrífugação é recomendada para clarificar 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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 Testosterona Total não foram ainda testados com todas as possiveis 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 soro o plasma.

Estabilidade: 7 dias a 2–8°C, ou 2 meses a –20°C[8].

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.



PRECAUÇÃO! POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO
Contém material de origem humana. Cada dádiva de sangue ou componente de sangue humano foi testada pelos métodos aprovados pela FDA quanto à presença de anticorpos dos vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e tipo 2 (VIH-2), bem como do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e dos anticorpos do vírus da hepatite C (VHC). Os resultados dos testes foram negativos (não repetidamente reativos). Nenhum teste oferece total garantia de que estes ou outros agentes infeciosos estejam ausentes; este material deve ser manuseado de acordo com as boas práticas laboratoriais e precauções universais.[10-12]

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as normas aplicadas.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas obtidas de soro humano foram testadas, dando 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, com concentrações menores que 0,1 g/dL, foi adicionada a certos componentes como conservante. Ao eliminar, dilua com grandes volumes de água para evitar a acumulação de

azidas metálicas explosivas em canalizações de chumbo e cobre.

Substrato quimioluminescente: Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula).

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 Testosterona Total (L2TW12)
Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com anti-testosterona policlonal de coelho. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KTW2: 1 embalagem
L2KTW6: 3 embalagens

Embalagem de Reagente de Testosterona Total (L2TWA2)
Com código de barras. 11,5 mL cada com fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugada com testosterona tamponizado. Estável até à data de validade a 2–8°C.
L2KTW2: 1 embalagem
L2KTW6: 3 embalagens

Antes de utilizar, retire a parte superior da etiqueta na perfuração, sem danificar o código de barras. Remova o selo de alumínio do topo da embalagem, e encaixe a tampa deslizante nas rampas na tampa do reagente.

Ajustes Testosterona Total (LTWL, LTWH)
Dois frascos (nível alto e baixo), de 4,0 mL cada, de testosterona em soro humano processado, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KTW2: 1 conjunto
L2KTW6: 2 conjuntos

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas de alíquota apropriadas (fornecidas com o "kit") em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Multidiluente 1 (L2M1Z)
Para diluição de amostras de doentes no aparelho. Um frasco de concentrado pronto a usar, constítuido por soro humano normal, (com conservante) processado, com níveis baixos ou indetectáveis de Testosterona. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2M1Z: 25 mL

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2M1Z: 3 etiquetas

L2SUBM: Substrato quiomioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Kit de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)
L2ZT: 250 Tubos de diluente da amostra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

Também necessário:
Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos

Procedimento de doseamento

Ter em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000.

Consultar o Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000 relativamente aos procedimentos de preparação, diluição, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável:
1 semana

Amostras de controlo de qualidade:
Observe os regulamentos governamentais ou os requisitos de acreditação quanto à frequência do controlo de qualidade.

Utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de testosterona.

A Siemens Healthcare Diagnostics recomenda a utilização de materiais de controlo de qualidade comercialmente disponíveis com pelo menos 2 níveis (baixo e alto). É alcançado um nível de desempenho satisfatório quando os valores dos analitos obtidos estiverem dentro dos Limites de Controlo Aceitáveis para o sistema ou dentro dos limites estabelecidos e determinados pelo regime de controlo de qualidade laboratorial interno adequado.

Valores de Referência

Para determinar os intervalos de referência da testosterona para homens e mulheres não grávidas, foi colhido um total de 186 amostras de soro de homens e mulheres aparentemente saudáveis. Todas as amostras foram ensaiadas pelo procedimento IMMULITE 2000 Testosterona Total, estando os resultados tabulados abaixo.

	n	Mediano (ng/dL)	Valor Mediano 95%	Valor absoluto
Mulheres				
Em ovulação	40	25	ND–73	ND–73
Pós-menopausa	28	26	ND–43	ND–43
Homens				
20–49 anos	95	323	160–726	72–853
≥ 50 anos	23	317	129–767	129–767

ND: não é detectável

Considere estes limites apenas como *directrizes*. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores de referência.

Limitações

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

Consulte Tabelas e Gráficos para dados *representativos* do desempenho do doseamento. Os resultados são apresentados em ng/dL. (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/dL $\times$ 0,03467 $\rightarrow$ nmol/L

Calibração: 20–1600 ng/dL (0,7–55 nmol/L)

O ensaio é monotorizado com padrão interno feito com materiais qualificados e procedimentos de medição.

Sensibilidade Analítica: 15 ng/dL (0,5 nmol/L)

Precisão: Amostras foram processadas num período de 5 dias, dois ensaios por dia, perfazendo um total de 10 ensaios e 80 réplicas. (Consulte a tabela "Precision".)

Linearidade: As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. (Ver a tabela de "Linearidade" para dados representativos.)

Recuperação: Às amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 com três soluções testosterona total (3000, 6000 e 12 000 ng/dL) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recuperação" para dados representativos.)

Especificidade: O anticorpo é específico para testosterona. (Ver tabela de "Especificidade".)

Bilirrubina: Pode causar valores altos. (Ver tabela de "Bilirubin".)

Hemolise: A presença de hemoglobina em concentrações até 270 mg/dL não tem efeito aparente nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipémia: A presença de triglicéridos em concentrações superiores a 500 mg/dL pode interferir com a análise. (Vêr tabela de "Lipemia".)

Tipo de Amostras Alternativas: De modo a testar o efeito em amostras alternativas foi colhido sangue em 17 voluntários em tubos de plástico lisos, heparinizados e com EDTA e em tubos de barreira de gel (SST®). Todos os tubos são da Becton Dickinson. Todas as amostras foram ensaiadas no IMMULITE 2000 com o kit de Testosterona Total.

(EDTA Plástico) = 1,78 (Soro Plástico) + 47 ng/dL
r = 0,981

(Na Heparina Plástico) = 0,89 (Soro Plástico) + 2,3 ng/dL
r = 0,977

(SST Plástico) = 0,96 (Soro Plástico) + 4,0 ng/dL
r = 0,976

Médias:
296 ng/dL (Soro Plástico)
266 ng/dL (Na Heparina Plástico)
575 ng/dL (EDTA Plástico)
288 ng/dL (SST Plástico)

Plasma colhido com EDTA não deve ser utilizado. A heparina causa diminuição nos valores obtidos.

Comparação de métodos: O doseamento Testosterona Total IMMULITE 2000 foi comparado ao Kit de Testosterona Total Coat-A-Count em 197 amostras. (Zona de trabalho: aproximadamente 20 a 1200 ng/dL. Ver gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 1,00 (CAC) + 13,3 ng/dL
r = 0,976

Médias:
326 ng/dL (IMMULITE 2000)
312 ng/dL (Coat-A-Count)

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE and Coat-A-Count are trademarks of Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2018 Siemens Healthcare Diagnostics.
All rights reserved.

Origin: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

CE

2018-03-15

PIL2KTW – 17

cc#EU23262, cc#EU23262A

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol Definition

IVD

En: *In vitro* diagnostic medical device
De: Medizinisches Gerät zur *in vitro* Diagnose
Es: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
Fr: Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
It: Dispositivo medico per diagnostica *in vitro*
Pt: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

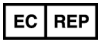
REF

En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo

Symbol Definition



En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante



En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia



En: CE Mark
De: CE-Kennzeichen
Es: Marca CE
Fr: Marque CE
It: Marchio CE
Pt: Marca CE



En: CE Mark with identification number of notified body
De: CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle
Es: Marca CE con número de identificación del organismo notificado
Fr: Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié
It: Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato
Pt: Marca CE, com número de identificação do organismo notificado



En: Consult instructions for use
De: Bedienungshinweise beachten
Es: Consulte las instrucciones de uso
Fr: Consulter le mode d'emploi
It: Consultare le istruzioni per l'uso
Pt: Consulte as instruções de utilização

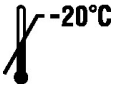
Symbol Definition



En: Caution! Potential Biohazard
De: Vorsicht! Biologisches Risikomaterial
Es: ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial
Fr: Avertissement ! Risque biologique potentiel
It: Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico
Pt: Atenção! Potenciais Riscos Biológicos



En: Temperature limitation (2–8°C)
De: Temperaturgrenze (2–8°C)
Es: Limitación de temperatura (2–8°C)
Fr: Limites de température (2–8°C)
It: Limiti di temperatura (2–8°C)
Pt: Limites de temperatura (2–8°C)



En: Upper limit of temperature (≤ -20°C)
De: Obere Temperaturgrenze (≤ -20°C)
Es: Límite superior de temperatura (≤ -20°C)
Fr: Limite supérieure de température (≤ -20°C)
It: Limite superiore di temperatura (≤ -20°C)
Pt: Limite máximo de temperatura (≤ -20°C)



En: Lower limit of temperature (≥ 2°C)
De: Mindesttemperatur (≥ 2°C)
Es: Límite inferior de temperatura (≥ 2°C)
Fr: Limite inférieure de température (≥ 2°C)
It: Limite inferiore di temperatura (□≥ 2°C)
Pt: Limite mínimo de temperatura (≥ 2°C)



En: Do not freeze (> 0°C)
De: Nicht einfrieren (> 0°C)
Es: No congelar (> 0°C)
Fr: Ne pas congeler (> 0°C)
It: Non congelare (> 0°C)
Pt: Não congelar (> 0°C)



En: Do not reuse
De: Nicht zur Wiederverwendung
Es: No reutilizar
Fr: Ne pas réutiliser
It: Non riutilizzare
Pt: Não reutilizar

Symbol	Definition
	**En:** Keep away from sunlight **De:** Vor Sonneneinstrahlung schützen **Es:** Proteger de la luz solar **Fr:** Maintenir hors de portée de la lumière du soleil **It:** Non esporre alla luce del sole **Pt:** Manter afastado da luz solar
LOT	**En:** Batch code **De:** Chargenbezeichnung **Es:** Número de lote **Fr:** Numéro de code du lot **It:** Codice lotto **Pt:** Código de lote
	**En:** Contains sufficient for (n) tests **De:** Es reicht für (n) Tests **Es:** Contiene suficiente para (n) pruebas **Fr:** Contient du matériel suffisant pour (n) tests **It:** Contiene materiale sufficiente per (n) test **Pt:** Contém o suficiente para (n) testes
2008-01	**En:** Date format (year-month) **De:** Datumsformat (Jahr-Monat) **Es:** Formato de fecha (año-mes) **Fr:** Format de la date (année-mois) **It:** Formato data (anno-mese) **Pt:** Formato de data (ano-mês)
	**En:** Use by **De:** Verwendbar bis **Es:** Fecha de caducidad **Fr:** A utiliser avant **It:** Usare entro **Pt:** Usar até
	**En:** Health Hazard **De:** Gesundheitsgefährdung **Es:** Peligro para la salud **Fr:** Dangereux pour la santé **It:** Pericolo per la salute **Pt:** Perigo para a saúde
	**En:** Exclamation Mark **De:** Ausrufezeichen **Es:** Signo de exclamación **Fr:** Point d'exclamation **It:** Punto esclamativo **Pt:** Ponto de exclamação
	**En:** Corrosion **De:** Korrosion **Es:** Corrosión **Fr:** Corrosion **It:** Corrosione **Pt:** Corrosão

Symbol	Definition
	**En:** Skull and Crossbones **De:** Totenkopf mit gekreuzten Knochen **Es:** Calavera y tibias cruzadas **Fr:** Tête de mort sur tibias croisés **It:** Teschio e tibie incrociate **Pt:** Caveira sobre tíbias cruzadas
	**En:** Environment **De:** Umwelt **Es:** Medio ambiente **Fr:** Environnement **It:** Ambiente **Pt:** Ambiente
BEAD PACK	**En:** Bead Pack **De:** Kugel-Container **Es:** Cartucho de bolas **Fr:** Cartouche de billes **It:** Contenitore di biglie **Pt:** Embalagem de esferas
TEST UNIT	**En:** Test Unit **De:** Testeinheit **Es:** Unidades de análisis **Fr:** Unité de test **It:** Test Unit **Pt:** Unidades de Teste
REAG WEDGE REAG WEDGE A REAG WEDGE B REAG WEDGE D	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto

Symbol	Definition
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL CONTROL 1 CONTROL 2 CONTROL 3	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo

Symbol	Definition
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

Toxoplasma IgM (µ-Capture)

For the Qualitative Detection of IgM Antibodies to *Toxoplasma gondii*

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture)

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the presumptive qualitative detection of IgM antibodies to *Toxoplasma gondii* in human serum or plasma (EDTA or heparinized), particularly for women of childbearing age. When performed in conjunction with a Toxoplasma IgG assay, the IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) can be used as an aid in the presumptive diagnosis of acute, recent or reactivated *Toxoplasma* infection.

Catalog Number: **L2KTZ2** (200 tests)

Test Code: **TXU** Color: **Violet**

This kit is not FDA cleared for use in the testing (i.e. screening) of blood or plasma donors.

Summary and Explanation

Toxoplasma gondii is an obligate intracellular parasite capable of infecting most mammals, including humans. The organism is transmitted through ingestion of insufficiently cooked meat. Throughout the world, 1 to 90 percent of populations may be infected,[7] with 25 to 30 percent of the adult population infected in the United States.[3] While toxoplasmosis may be manifested in several forms, infections are usually clinically inapparent, and latent infections usually persist for life.[2] Overt clinical symptoms are similar to infectious mononucleosis, with lymphadenopathy, fever, headache, malaise and sometimes pneumonia and myocarditis.[6]

As with other latent infections, acute toxoplasma infection can pose a serious threat to immunocompromised individuals and newborns who acquire the infection *in utero*. Immunosuppressed patients may develop encephalitis, myocarditis or pneumonitis.[3] Congenital infections usually result as a consequence of asymptomatic acute maternal infection. This infection can cause premature delivery, spontaneous abortion or stillbirth.[4,6] Neonates may manifest chorioretinitis, hydrocephaly, microcephaly, cerebral calcification and psychomotor retardation.[1] The majority of congenitally infected children will not exhibit any symptoms until later in life.[4]

Management of toxoplasmosis requires serological monitoring of infected individuals,[3] as the organism is not readily available for culture. Qualitative testing for the presence of toxoplasma IgM is useful to determine acute infection. Accurate diagnostic information is important, particularly during pregnancy, as treatment with spiramycin can reduce the risk to the fetus.[5]

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) is a solid-phase, two-step chemiluminescent enzyme IgM antibody µ-capture immunoassay. The solid phase, a polystyrene bead, is coated with a monoclonal murine anti-IgM antibody.

The patient specimen and coated bead are added to the Reaction Tube. An alkaline phosphatase-labeled *Toxoplasma* antigen is also added to the Reaction Tube. After the wash and incubation steps, chemiluminescent substrate undergoes hydrolysis in the presence of alkaline phosphatase. IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) is an immunometric assay. The photon output, as measured by the luminometer, is related to the presence of *Toxoplasma* IgM antibodies in the sample.

Incubation Cycles: 2 × 30 minutes

Specimen Collection

The patient need not be fasting, and no special preparations are necessary.

Collect blood aseptically by venipuncture,[12] avoiding hemolysis, into plain, heparinized or EDTA tubes, and separate the serum or plasma from the cells.

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.

Samples which are cloudy or have particulate material should be clarified by low-speed centrifugation.

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 manufactures may yield differing values, depending on tube materials and additives, including gel or physical barriers, clot activators and/or anticoagulants. IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) 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: 10 µL serum or plasma

Storage: 3 days at 2–8°C, or 6 months at –20°C.[10]

Automatic Predilution Factor: 20

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.



CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD
Contains human source material. Each donation of human blood or blood component was tested by FDA-approved methods for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) as well as for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis C virus (HCV). The test results were negative (not repeatedly reactive). No test offers complete assurance that these or other infectious agents are absent; this material should be handled using good laboratory practices and universal precautions.[14-16]

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.



Danger! Harmful to aquatic life with long lasting effects. Toxic in contact with skin. Harmful if swallowed.

H412, H311, H302

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

Wear protective gloves/ protective clothing/eye protection/face protection. Avoid release to the environment. IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell. IF ON SKIN: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell. Dispose of contents and container in accordance with all local, regional, and national regulations.
Contains: sodium azide; Toxoplasma IgM (µ-capture) Adjustor, Toxoplasma IgM (µ-capture) Controls

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.

Because no test method can offer complete assurance that laboratory specimens do not contain HIV, hepatitis B virus, or other infectious agents, specimens should be handled at the BSL 2 as recommended for any potentially infectious human serum or blood specimen in the CDC-NIH manual, *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 1993*.

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.

Results determined for a given specimen with assays from different manufacturers can vary due to differences in assay methods and reagent specificity. Therefore, the results reported by the laboratory to the physician should include: "The following results were obtained with the IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) EIA. Results obtained from other manufacturers' assay methods may not be used interchangeably."

The Toxoplasma IgM (µ-Capture) Adjustor and Controls supplied with the kit should be fully dissolved after reconstitution. Failure to ensure the homogeneity of the solution may result in poor reproducibility of results.

Materials Supplied

Components are a matched set. Labels on the inside box are needed for the assay.

Toxoplasma IgM (µ-Capture) Bead Pack (L2TZ12)
With barcode. 200 beads, coated with with murine monoclonal anti-human IgM antibody. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KTZ2: 1 pack

Toxoplasma IgM (µ-Capture) Reagent Wedge (L2TZA2)
With barcode. Two reagents**:** 11.5 mL of a protein-based buffer. 11.5 mL of alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to native P-30 *Toxoplasma* antigen, in buffer. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KTZ2: 1 wedge

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.

Toxoplasma IgM (µ-Capture) Adjustor (LTZR)
Lyophilized human serum with IgM reactive to *Toxoplasma*, in buffer, with preservative. The Adjustor serves as the assay's Cutoff. Reconstitute by adding **4.0 mL** distilled or deionized water. Mix by *gentle* swirling or inversion until the lyophilized material is fully dissolved. (No further dilution is required.) Stable at 2–8°C for 14 days after reconstitution, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KTZ2: 1 vial

Toxoplasma IgM (µ-Capture) Controls (LTZC1, LTZC2)
LTZC1 (Negative Control): One vial containing lyophilized human serum nonreactive to *Toxoplasma*, with preservative. **LTZC2 (Positive Control):** One vial containing lyophilized human serum with IgM reactive to *Toxoplasma*, with preservative. Reconstitute each vial with **2.0 mL** distilled or deionized water. Mix by gentle swirling or inversion until the lyophilized material is fully dissolved. Stable at 2–8°C for 14 days after reconstitution, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KTZ2: 1 set

The IMMULITE 2000 software performs automatic on-board dilution of control samples, and the results will be tracked in the QC database. Enter controls as controls.

For the current control ratio ranges, please refer to the Control insert.

Aliquot Labels with barcodes are supplied with the kit, for use with the Adjustors and Controls. Before use, place the appropriate Aliquot Labels on test tubes,

so the barcodes can be read by the barcode reader on the IMMULITE 2000.

IgG/IgM Sample Diluent (L2IGZ2)
For the on-board dilution of patient samples and controls. 55 mL concentrated (ready-to-use) nonhuman protein/buffer matrix, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KTZ2: 1 vial

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.
L2KTZ2: 3 labels

Kit Components Supplied Separately

IgG/IgM Sample Diluent (L2IGZ2)
For the on-board dilution of patient samples and controls. 55 mL concentrated (ready-to-use) nonhuman protein/buffer matrix, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2IGZ2: 1 vial

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.
L2IGZ2: 5 labels

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate
L2PWSM: Probe Wash
L2KPM: Probe Cleaning Kit
LRXT: Reaction Tubes (disposable)
L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

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 Systems Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual for preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval:
2 weeks

Quality Control Samples:
The Toxoplasma IgM (µ-Capture) Controls (LTZC1-2) supplied with the kit should be used as quality control material to monitor the performance of the assay at the cutoff range. The Positive Control is used to validate the IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) assay at a critical level when determining the presence of an active toxoplasma infection.

In addition to the controls provided, users may wish to run additional controls for their own purposes

Additional controls may be tested in accordance with guidelines or requirements of local, state, and/or federal regulations or accrediting organizations.

It is also recommended that known reactive and nonreactive specimens be run periodically to assure pipetting accuracy for the dilution step.

The controls should be processed at (or near) the beginning of every run containing patient samples to be tested for *Toxoplasma* IgM, and also when readjusting.

Users of the IMMULITE 2000 system are advised to consult the NCCLS document C24-A, Internal Quality Control Testing: Principles and Definitions, for additional guidance on quality control for the basic principles and definitions in dealing with internal quality control testing.

Calculation of Cutoff and S/CO Ratio:
The Master Cutoff of the assay was determined from representative samples to achieve optimal sensitivity and specificity for the assay.

The cutoff is set equal to the average counts per second (mean cps) of the Adjustor (from the most recent adjustment) multiplied by Curve Parameter 1. (See the "Low Adjustor CPS" and "Curve Parameter 1" fields in the IMMULITE 2000 Kit Information screen, which can be accessed from the menu via Data Entry: Kit Entry.)

Calculation of a signal/cutoff (s/co) ratio is done by using the following formula:

$$\text{S/CO Ratio} = \frac{\text{Sample or Control cps}}{\text{Mean Adjustor cps} \times \text{P1}}$$

Calculation and reporting of qualitative (reactive/nonreactive/indeterminate) and s/co ratio results are handled automatically by the IMMULITE 2000.

The result for a sample is reported as "Indeterminate" if the counts per second for that sample fall within ±10% of the cutoff. The result is reported as "Reactive" if the sample's counts are *above* the indeterminate range, and "Nonreactive" if *below* this range.

Interpretation of Results

The cutoff of the IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) assay was determined with reactive and nonreactive patient samples by a ROC analysis with a balanced consideration of sensitivity and specificity.

A result of **"Reactive"** (ratio of ≥ 1.1) indicates that the patient's sample is reactive and that *Toxoplasma* IgM antibodies were detected in the sample.

A result of **"Nonreactive"** (ratio of < 0.9) indicates that the patient's sample is nonreactive and that *Toxoplasma* IgM antibodies were not detected in the sample.

Any result of **"Indeterminate"** (ratio between 0.9 and < 1.1) should be retested. Samples which still test as "Indeterminate" should be tested by an alternate method, or a second sample should be taken — if possible — within a reasonable period of time (e.g., one week).

The presence of IgM antibodies to *Toxoplasma gondii* is an indication of a recent exposure to the organism.[11]

The magnitude of the measured results (cps) above the Cutoff is not indicative of the total amount of antibodies detected.

An interpretation of the results is not recommended if the positive or negative control falls outside the range specified in the Quality Control section.

Reports by the laboratory to the physician should include: "The following results were obtained with the IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) EIA. Values obtained from other manufacturers' assay methods may not be used interchangeably."

Diagnosis of acute infection should not rely on any single test result. If acute infection is suspected, a patient sample should be tested for the presence of both *Toxoplasma*-specific IgG and IgM antibodies. The results should be interpreted according to the guidelines provided in the following table and a new sample obtained, if applicable.

Anti-*Toxoplasma gondii* Result		
IgM	**IgG**	**Report/Interpretation**
Nonreactive	Nonreactive	It is presumed the patient has not been infected with and is not undergoing an acute infection with *Toxoplasma gondii.* If symptoms persist submit a new specimen within three weeks.
Nonreactive	Reactive	From this testing it cannot be determined whether the patient is or is not undergoing a reactivated *Toxoplasma gondii* infection. It appears the patient has been previously infected with *Toxoplasma gondii*. Infection occurred more than one year ago.
Nonreactive	Equivocal	Obtain a new specimen for further testing. The patient may not be undergoing an acute infection with *Toxoplasma gondii.* Determining whether the patient has been previously infected with *Toxoplasma gondii* is not possible.
Equivocal	Nonreactive	Obtain a new specimen for determination of IgM antibodies to *Toxoplasma gondii.* It cannot be determined if the patient is undergoing an acute *Toxoplasma gondii* infection. It appears the patient has not been previously infected with *Toxoplasma gondii.* If the new specimen result is reactive or equivocal for IgM antibodies, the specimen should be sent to a reference laboratory with experience in the diagnosis of toxoplasmosis for further testing.
Equivocal	Reactive	Obtain a new specimen for determination of IgM antibodies to *Toxoplasma gondii.* It cannot be determined if the patient is undergoing or has undergone an acute *Toxoplasma gondii* infection. It appears the patient has been previously infected with *Toxoplasma gondii.* If the new specimen result is equivocal or reactive for IgM antibodies, the specimen should be sent to a reference laboratory with experience in the diagnosis of toxoplasmosis for further testing.

Anti-*Toxoplasma gondii* Result		
IgM	**IgG**	**Report/Interpretation**
Equivocal	Equivocal	Obtain a new specimen for further testing. It cannot be determined if the patient is undergoing an acute infection or has been previously infected with *Toxoplasma gondii.* If the new specimen result is equivocal or reactive for IgM antibodies, the specimen should be sent to a reference laboratory with experience in the diagnosis of toxoplasmosis for further testing.
Reactive	Nonreactive	Obtain a new specimen for further testing. The patient may or may not be acutely infected with *Toxoplasma gondii.* Since the IgG antibodies to *Toxoplasma gondii* are nonreactive, the specimen may have been obtained too early in the disease process for an accurate determination. Retest the new specimen with a different anti-*Toxoplasma gondii* IgM assay. If the new specimen result is still reactive for IgM antibodies, the specimen should be sent to a reference laboratory with experience in the diagnosis of toxoplasmosis for further testing.
Reactive	Reactive	The patient may or may not be acutely infected with *Toxoplasma gondii.* Obtain a new specimen for further testing. Since the IgG antibodies to *Toxoplasma gondii* are reactive, it appears the patient may be acutely infected with *Toxoplasma gondii.* The new specimen should be repeated with a different anti-*Toxoplasma gondii* IgM assay. If the new specimen result is still reactive for IgM and IgG antibodies to *Toxoplasma gondii,* the specimen should be sent to a reference laboratory with experience in the diagnosis of toxoplasmosis for further testing.
Reactive	Equivocal	It cannot be determined if the patient is acutely infected with *Toxoplasma gondii.* Obtain a new specimen for further testing. Determining whether the patient has been previously infected with *Toxoplasma gondii* is not possible. The specimen may have been collected too early during the disease process for an accurate determination. Retest the new specimen with a different anti-*Toxoplasma gondii* IgM assay. If the new specimen result is still reactive for IgM and the IgG is reactive/nonreactive/equivocal for antibodies to *Toxoplasma gondii,* the specimen should be sent to a reference laboratory with experience in the diagnosis of toxoplasmosis for further testing.

Expected Values

Individuals infected with the *Toxoplasma* organism will typically exhibit detectable levels of IgM antibody immediately before or soon after the onset of symptoms.[2] IgM titers normally decline within four to six months, but may persist at low levels up to a year.[4] Patients with active *toxoplasma* chorioretinitis usually have undetectable levels of IgM.[4]

The prevalence of *Toxoplasma* infection can vary depending on a number of factors such as age, gender, geographical location, socio-economic status, race, type of test used, specimen collection and handling procedures, and clinical and epidemiological history of individual patients. There are approximately 3000 cases of congenital toxoplasmosis reported per year, with an average of 0.6 cases per 1000 pregnancies in the United States.[13]

Limitations

The results of the test must be taken within the context of the patient's clinical history, symptomology and other laboratory findings. Results of the IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) kit are not by themselves diagnostic and should be interpreted in

light of the patients' clinical condition and the results of other diagnostic procedures.

For the determination of seroconversion from *nonreactive* to *reactive*, two serum samples should be drawn three to four weeks apart, during the acute and convalescent stages of the infection. The acute phase sample should be stored and tested in parallel with the convalescent sample.

The results in HIV patients, in patients undergoing immunosuppressive therapy, or in patients with other disorders leading to immunosuppression, should be interpreted with caution. A nonreactive result for *Toxoplasma* IgM does not preclude the possibility of an acute infection in immunocompromised patients. *Toxoplasma gondii*-specific IgG antibodies are generally low, and *Toxoplasma gondii*-specific IgM antibodies may be undetectable in patients who are immunocompromised.

The performance characteristics of this assay have not been established for use with neonates, cord blood, or pretransplant patients.

Antibodies to human IgG have been added to the reagents to remove specific IgG and rheumatoid factors which may cause false reactive responses.

The performance of the IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) assay has not been established for sample matrices other than human serum and plasma.

The presence of IgM antibodies in a single specimen is not sufficient to distinguish between active or past infection. Patients suspected of having primary or active infection should be tested for the presence of IgG antibodies to *Toxoplasma gondii*.

If a treatment is prescribed early enough, antibody production is decreased, and IgG and IgM levels remain low and can coexist for years.

The continued presence or absence of antibodies cannot be used to determine the success or failure of therapy.

Reactive test results may not be valid in persons who have received blood transfusions or other blood products within the past several months.

Testing should not be performed as a screening procedure for the general population. The predictive value of a reactive or nonreactive serologic result depends on the pre-test likelihood of toxoplasmosis being present. Testing should only be done when clinical evidence suggests the diagnosis of toxoplasmosis.

This test is not intended for the determination of immune status. It is intended for the determination of a patient's antibody response to indicate active infection to *Toxoplasma gondii* and not as an indication of immunity.

Low levels of IgM antibodies may occasionally persist for more than 12 months post-infection. Such a residual antibody response may be distinguished from the early IgM response to active infection by testing sera from the patient 2–4 weeks later using the IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) kit and by reference to changing levels of *Toxoplasma* IgG antibodies.

Specific IgM antibodies are usually detected in patients with recent primary infection, but they may be found in patients with reactivated or secondary infections, and they are sometimes found in patients with no other detectable evidence of recent infection.

Samples taken too early during the course of a primary infection with *Toxoplasma gondii* may not contain detectable levels of IgM-specific antibody. In some patients, IgM-specific antibody results may revert to nonreactive levels within three weeks after infection with *Toxoplasma gondii*. Measurement of *Toxoplasma gondii*-specific IgG antibodies may also be of some value in the serological assessment of these patients.

With very low prevalence analytes, such as anti-*Toxoplasma gondii* IgM, there is the increased possibility that a reactive result is actually a false reactive, reducing the assay's positive predictive value.

Due to the high sensitivity of the assay, samples from a *Toxoplasma* subacute infection may be detectable. Results from these samples should be further evaluated in the context of the clinical examination, patient medical history, and other findings.

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 immuno-assays. 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 as a signal-to-cutoff ratio.

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.)

Crossreactivity: A study was conducted to evaluate whether the measurement of *Toxoplasma* IgM antibody is affected by closely related microorganisms. Eighty-seven seronegative sera containing antibodies to varicella zoster virus (*n*=3), measles (*n*=10), cytomegalovirus (CMV) (*n*=10), herpes simplex virus (*n*=10), *Toxoplasma* (*n*=10), *Mycoplasma pneumoniae* (*n*=10), Epstein-Barr virus (*n*=10), syphilis (*n*=10), parvovirus (*n*=8) and rheumatoid factor (*n*=6) were tested by IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture), and all yielded nonreactive results.

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.

Biotin: Specimens that contain biotin at a concentration of 1500 ng/mL demonstrate a less than or equal to 10% change in results. Biotin concentrations greater than this may lead to incorrect results for patient samples.

Hemolysis: Presence of hemoglobin in concentrations up to 539 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 3000 mg/dL may have an effect on results. (See "Lipemia" table.)

Alternate Sample Type: To assess the effect of alternate sample types, blood was collected from 34 volunteers into plain, heparinized, EDTA and SST® Becton Dickinson plastic vacutainer tubes. Eleven samples were spiked with sera containing IgM antibodies to *Toxoplasma*, and all samples were assayed by the IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) procedure. Results are expressed as a signal-to-cutoff ratio. By linear regression:

(EDTA Plastic) = 1.02 (Serum Plastic) + 0.009
r = 0.998

(Heparin Plastic) = 1.00 (Serum Plastic) – 0.002
r = 0.996

(SST Plastic) = 1.03 (Serum Plastic) – 0.006
r = 0.994

Means:
0.53 (Serum Plastic)
0.55 (EDTA Plastic)
0.54 (Heparin Plastic)
0.54 (SST Plastic)

In another experiment, blood was collected from 40 volunteers into glass and plastic serum Becton Dickinson vacutainer tubes. All samples were assayed by the IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) procedure. Results are expressed as a signal-to-cutoff ratio. By linear regression:

(Serum Plastic) = 1.00 (Serum Glass) + 0.010
r = 0.808

Means:
0.11 (Serum Plastic)
0.10 (Serum Glass)

Method Comparison: The assay was compared to a commercially available µ-capture assay for *Toxoplasma* IgM (Kit A) on 195 samples:

	IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (μ-Capture) (L2KTZ)		
Kit A	Pos	Ind	Neg
Reactive	18	1	0
Indeterminate	1	0	1
Nonreactive	4	0	170

Total Agreement: 96.4% (188/195)
Relative Sensitivity: 94.7% (18/19)
Relative Specificity: 97.7% (170/174)
Positive Predictive Value: 78.3% (18/23)
Negative Predictive Value: 99.4% (170/171)

Clinical Performance

In a clinical study performed in Europe, specimens from 452 defined *Toxoplasma* IgM negative patients and 40 defined *Toxoplasma* acute phase infection patients were evaluated by the IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (μ-Capture) procedure. The specimens were analyzed and *Toxoplasma* IgM positive and negative indications were defined by well established diagnostic methods, clinical findings and serological patterns. Of the 452 patients defined as *Toxoplasma* IgM negative, 396 were positive for *Toxoplasma* IgG, reflecting a latent or distant infection. Among these 396 latent infection patients, 293 were collected from pregnant women representing all stages of pregnancy. The tables below present the results of this study.

Comparison for All Subjects:

	Clinically Defined Samples		
IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM μ-Capture (L2KTZ)	Pos	Ind	Neg
Reactive	40	0	20
Indeterminate	0	0	6
Nonreactive	0	0	426

With Indeterminate Cases:
Agreement: 95.9% (472/492); Sensitivity: 100% (40/40); Specificity: 95.6% (432/452)

Without Indeterminate Cases:
Agreement: 95.9% (466/486); Sensitivity: 100% (40/40); Specificity: 95.5% (426/446)

Comparison for Pregnant Subjects:

	Clinically Defined Samples		
IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM μ-Capture (L2KTZ)	Pos	Ind	Neg
Reactive	0	0	14
Indeterminate	0	0	5
Nonreactive	0	0	274

With Indeterminate Cases:
Specificity: 95.2% (279/293)

Without Indeterminate Cases:
Specificity: 95.1% (274/288)

References

1) Daffos F. Prenatal management of 746 pregnancies at risk for congenital toxoplasmosis. N Engl J Med 1988;318: 271-5. 2) Krick JA, Remington JS. Toxoplasmosis in the adult: an overview. N Engl J Med 1978;298: 550-3. 3) Krogstad DJ, et al. Blood and tissue protozoa. In: Lennette EH, et al, editors. Manual of clinical microbiology. 4th ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1985: 612-30. 4) McCabe RE, Remington JS. *Toxoplasma gondii*. In: Mandell, Douglas, Bennett, editors. Principles and practice of infectious diseases. 2nd ed. New York: John Wiley, 1985. 5) Jeannel D, et al. What is known about the prevention of congenital toxoplasmosis? Lancet 1990;336:359-61. 6) Remington JS. McLeod R. Toxoplasmosis. In: Braude, editor. Microbiology and infectious diseases. Philadelphia: Saunders, 1981. 7) Walls KW. Toxoplasmosis. In: Balows A, et al, editors. Laboratory diagnosis of infectious diseases. New York: Springer-verlag, 1988: 998-1017. 8) Baltz ML, Searcy RL. Clinical significance and advanced serologic diagnosis of ToRCH infections. Am Clin Lab 1994;March/April:18-23. 9) Wilson M, et al. Seroepidemiology of toxoplasmosis in the United States. [Reprint from Abstracts presented at the 1994 American Society for Microbiology, May 1994]. 10) Tietz NW, editor. Clinical guide to laboratory tests. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1995:354-60. 11) van Loon AM, van der Logt JTM, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay that uses labeled antigen for detection of immunoglobulin M and A antibodies in Toxoplasmosis: comparison with indirect immunofluorescence and double-sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. J Clin Microbiol 1983; June: 997-1004. 12) 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. 13) Isada, CM, et al. Infectious Diseases Handbook. Lexi-Comp and American Pharmaceutical Association. Hudson, OH. 4th Edition, 2001:317.

14) Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. MMWR, 1988;37:377–82, 387–8. 15) Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3. 16) Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030.

Technical Assistance

Available outside the United States only. For technical assistance, contact your National Distributor.

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

Precision (ratio)

		Within-Run[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	0.09	0.005	4.9%	0.008	8.0%
2	0.10	0.005	5.3%	0.006	6.4%
3	0.85	0.052	6.2%	0.047	5.5%
4	0.98	0.036	3.7%	0.033	3.3%
5	1.00	0.040	4.0%	0.034	3.4%
6	1.58	0.075	4.8%	0.063	4.0%
7	2.78	0.101	3.7%	0.097	3.5%
8	42.8	1.510	3.5%	1.34	3.1%

Lipemia (ratio)

	Triglycerides Added[1] mg/dL	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	—	0.08	—	—
	500	0.08	0.08	100%
	1000	0.09	0.08	113%
	2000	0.09	0.07	129%
	3000	0.10	0.07	143%
2	—	0.81	—	—
	500	0.88	0.79	111%
	1000	0.83	0.77	108%
	2000	0.85	0.73	116%
	3000	0.85	0.69	123%
3	—	1.05	—	—
	500	1.14	1.02	112%
	1000	1.05	1.00	105%
	2000	1.08	0.95	114%
	3000	1.02	0.89	115%
4	—	1.25	—	—
	500	1.38	1.22	113%
	1000	1.29	1.19	108%
	2000	1.28	1.13	113%
	3000	1.29	1.06	122%
5	—	1.77	—	—
	500	1.87	1.73	108%
	1000	1.79	1.68	107%
	2000	1.75	1.59	110%
	3000	1.81	1.50	121%
6	—	6.43	—	—
	500	6.65	6.27	106%
	1000	6.47	6.11	106%
	2000	6.57	5.79	113%
	3000	5.87	5.47	107%

Deutsch. **Precision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]S (Standardabweichung), [5]CV (Variationskoeffizient). **Lipemia**: [1]zugesetzte Triglyceride, [2]Beobachtet (B), [3]Erwartet (E), [4]% B/E.

Español. **Precision**: [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV. **Lipemia**: [1]Triglicéridos añadida, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E.

Français. **Precision**: [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]SD, [5]CV. **Lipemia**: [1]Triglycérides ajouté, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A.

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione). **Lipemia**: [1]Trigliceridi aggiunta, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A.

Português. **Precision**: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação. **Lipemia**: [1]Trigliceridos adicionada, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E.

Deutsch

IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture)

Anwendung: Zur in vitro-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme — zum qualitativen Nachweis von IgM-Antikörpern gegen *Toxoplasma gondii* in Humanserum oder Plasma (EDTA, Heparin), inbesondere bei Frauen im gebärfähigen Alter. In Verbindung mit einem Toxoplasma IgG Assay kann der IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) als Hilfestellung bei der Diagnose einer akuten, durchgemachten oder reaktiven *Toxoplasma gondii* Infektion eingesetzt werden.

Artikelnummern: **L2KTZ2** (200 Tests)

Testcode: **TXU** Farbe: **violett**

> Dieses Testsystem ist von der US-amerikanischen Lebensmittel- und Medikamentenbehörde FDA nicht für Screening-Tests mit Blut- oder Plasmaspendern freigegeben.

Klinische Relevanz

Toxoplasma gondii ist ein obligater intrazellulärer Parasit, der die meisten Säugetiere – einschließlich Menschen – befällt und zu Infektionen führt. Der Erreger wird durch den Verzehr von ungenügend gekochtem Fleisch übertragen. Weltweit sind möglicherweise zwischen 1 und 90 Prozent aller Populationen infiziert,[7] in den USA sind es 25–30 % der erwachsenen Bevölkerung.[3] Toxoplasmosen können sich in verschiedenen Formen manifestieren, normalerweise sind die Infektionen jedoch klinisch unauffällig und in ihrer latenten Form lebenslang präsent.[2] Zu den offenen klinischen Symptomen zählen infektiöse Mononukleosen mit Lymphadenopathien, Fieber, Kopfschmerzen, Unwohlsein und gelegentlich auch Lungenentzündungen und Myokarditiden.[6]

So wie andere latente Infektionen können auch akute Toxoplasmosen bei immungeschwächten Patienten und *in utero* infizierten Neugeborenen eine ernsthafte Bedrohung darstellen. Bei immunsupprimierten Patienten können Enzephalitis, Myokarditis oder Pneumonitis entstehen.[3] Kongenitale Infektionen sind normalerweise das Resultat einer asymptomatischen akuten Infektion der Mutter. Diese Infektionen könen zu Frühgeburten, Spontanaborten oder Totgeburten führen.[4,6] Bei Neugeborenen können Chorioretinitiden, Hydrozephalie, Mikrozephalie, zerebrale Kalkablagerungen sowie psychomotorische Behinderungen auftreten.[1] Die Mehrzahl der kongenital infizierten Kinder zeigt erst im späteren Leben Symptome.[4]

Da der Erreger von Toxoplasmosen nicht ohne weiteres kultiviert werden kann, müssen die infizierten Patienten serologisch überwacht werden.[3] Quantitative Bestimmungen von Toxoplasma-IgG können nützlich sein, um frühere und reaktivierte Infektionen anzuzeigen. Genaue diagnostische Daten sind vor allem bei Schwangerschaften wichtig, da eine Behandlung mit Spiramycin das Risiko für den Fetus herabsetzen kann.[5]

Methodik

IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) ist ein Festphasen. Zwei-Schritt Chemilumineszenz IgM-Antikörper µ-capture Enzymimmunoassay. Die Festphase, eine Polystyrolkugel die sich in einem Teströhrchen befindet, ist mit monoklonalen Maus Anti-IgM-Antikörpern beschichtet.

Die Patientenprobe und die beschichtete Kugel werden in das Rekationsröhrchen zugeführt. Ein mit alkalischer Phosphatase-markiertes Toxoplasma Antigen wird ebenfalls in das Reaktionsröhrchen beigefügt. Nach den Wasch-und Inkubationsschritten, wird das Chemilumineszens-Substrat in Gegenwart von alkalischer Phosphatase einer Hydrolyse unterworfen. IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) ist ein immunometrischer Assay. Die Photonenemission wird im Luminometer gemessen und steht in direktem Bezug zum Vorliegen von Toxoplasma IgM Antikörpern in der Probe.

Inkubationszyklen: 2 × 30 min.

Probengewinnung

Es ist keine besondere Vorbereitung der Patienten nötig.

Die Blutentnahme sollte durch Venenpunktion,[12] in unbehandelte Heparin oder EDTA Röhrchen, unter Vermeidung von Hämolyse, erfolgen. Die Abtrennung der Zellen von Plasma und Serum sollte sobald als möglich erfolgen.

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.

Trübe oder partikelhaltige Proben sollten bei niedriger Geschwindigkeit zentrifugiert werden, bis sie klar sind.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter 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 Toxoplasma IgM (µ-Capture) sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel „Alternative Probenarten“ zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 10 µl Serum oder Plasma

Lagerung: 3 Tage bei 2–8°C oder oder 6 Monate bei –20°C.[10]

Faktor für automatische Vorverdünnung: 20

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *In-vitro*-Diagnostik.



VORSICHT! BIOLOGISCHES RISIKOMATERIAL
Enthält Material humanen Ursprungs. Alle Blutspenden oder Blutkomponenten menschlicher Herkunft wurden nach FDA-genehmigten Methoden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die HI-Viren Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2) sowie von Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und Antikörpern gegen den Hepatitis C-Virus (HCV) getestet. Die Testergebnisse waren negativ (nicht wiederholt reaktiv). Durch keinen Test kann das Vorhandensein dieser oder anderer infektiöser Stoffe vollständig ausgeschlossen werden. Dieses Material ist mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und gemäß der allgemein anerkannten guten Laborpraxis zu handhaben.[14-16]

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.



H412, H311, H302

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

Gefahr! Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. Giftig bei Hautkontakt. Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Freisetzung in die Umwelt vermeiden. BEI VERSCHLUCKEN: Bei Unwohlsein GIFT-INFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Bei Unwohlsein GIFT-INFORMATIONS-ZENTRUM oder Arzt anrufen. Inhalt und Behälter sind in Übereinstimmung mit den gesetzlichen Bestimmungen zu entsorgen.
Enthält: Natriumazid; Toxoplasma IgM (µ-Capture) Kalibrator, Toxoplasma IgM (µ-Capture) Kontrollen

Reagenzien: Bei 2–8°C lagern. Die Entsorgung muss nach den jeweils gültigen Gesetzen erfolgen.

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.

Da keine Testmethode eine vollständige Sicherheit gewährleisten kann, dass Laborproben nicht HIV, Hepatitis B Virus oder andere infektiösen Erreger enthalten, sollten alle Proben im klinischen Labor (Biosafety Level 2) so behandelt werden, wie es für potentiell infektiöse Seren oder Blutproben im CDC-NIH Handbuch „*Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 1993“* beschrieben ist.

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 bzw. deionisiertes Wasser benutzen.

Unterschiede in der jeweiligen Methodik oder der Spezifität der Reagenzien könnten jedoch dazu führen, das die mit Testsystemen von verschiedenen Herstellern ermittelten Anti-Toxoplasmose-IgM-Ergebnisse für dieselben Proben nicht einheitlich sind. Die vom Labor an den Arzt weitergegebenen Ergebnisse sollten daher den folgenden Passus enthalten: „Die folgenden Ergebnisse wurden mit dem IMMULITE-2000 Testsystem zur quantitativen Bestimmung von Toxoplasmose-IgM (µ-Capture) erzielt.“ Sie sind nicht mit den Ergebnissen der Testsysteme anderer Hersteller austauschbar.

Der im Lieferumfang des Testsystems enthaltene Kalibratore sowie die Kontrolle sind nach dem Rekonstituieren vollständig aufzulösen. Ist die Homogenität der Lösung nicht sichergestellt, so kann dies die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse beeinträchtigen.

Im Lieferumfang enthalten

Die Bestandteile sind aufeinander abgestimmt. Die Aufkleber auf der Innenverpackung werden zur Testdurchführung gebraucht.

Toxoplasma IgM (µ-Capture) Kugel-Container (L2TZ12)
Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet Maus monoklonalen anti-human IgM Antikörpern. Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.
L2KTZ2: 1 Container

Toxoplasma IgM (µ-Capture) Reagenzbehälter (L2TZA2)
Barcodiert, 2 Reagenzien: 11,5 ml einer proteinbasierenden Pufferlösung. 11,5 ml mit alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugiert mit nativem P-30 *Toxoplasma* Antigen, in Puffer. Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.
L2KTZ2: 1 Container

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.

Toxoplasma IgM (µ-Capture) Kalibratore (LTZR)
Gefriergetrocknetes Humanserum mit Toxoplasma-reaktivem IgM in Pufferlösung (mit Konservierungsmittel). Die Kalibratore dient als Cutoff für den Assay. Fläschchen mit je **4,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. Zum Mischen leicht schwenken oder umdrehen, bis das lyophilisierte Material vollständig aufgelöst ist. (Muss nicht weiter verdünnt werden.) Nach Rekonstituierung 14 Tage bei 2–8°C, sonst 6 Monate (aliquotiert) bei –20°C haltbar.
L2KTZ2: 1 Fläschchen

Toxoplasma IgM (µ-Capture) Kontrollen (LTZC1, LTZC2)
LTZC1 (Negativkontrolle): Eine Flasche mit lyophilisiertem Humanserum, nicht-reaktiv gegen Toxoplasma; mit Konservierungsmitteln. **LTZC2 (Positivkontrolle):** Eine Flasche mit lyophilisiertem Humanserum mit IgM reaktiv gegen Toxoplasma, mit Konservierungsmitteln. Fläschchen mit je **2,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. Zum Mischen leicht schwenken oder umdrehen, bis das lyophilisierte Material vollständig aufgelöst ist. Nach Rekonstituierung 14 Tage bei 2–8°C, sonst 6 Monate (aliquotiert) bei –20°C haltbar.
L2KTZ2: 1 Set

Die IMMULITE 2000 Software führt automatische on-board-Verdünnungen der Kontrollen durch. Diese können im Qualitätsprogramm rückverfolgt werden. Geben Sie die Kontrollen als Kontrollen ein.

Die Konzentrationen entnehmen Sie bitte der Beilage zu den Kontrollen.

Aliquotierte Ettiketten mit Barcode, für die Kalibratoren und Kontrollen, sind im Kit enthalten. Vor dem Benutzen, sollten die entsprechenden aliquotierten Etiketten auf den Teströhrchen angebracht werden, damit die Barcodes vom IMMULITE 2000 Barcode-Leser gelesen werden können.

IgG/IgM–Verdünnungspuffer (L2IGZ2)
Zum automatischen Verdünnen der Patientenproben und Kontrollen. 55 ml Nichthumane Protein/Puffermatrix (konzentriert, gebrauchsfertig) mit Konservierungsmittel. 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C oder 6 Monate bei –20°C haltbar.
L2KTZ2: 1 Fläsche

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2KTZ2: 3 Etiketten

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

IgG/IgM–Verdünnungspuffer (L2IGZ2)
Zum automatischen Verdünnen der Patientenproben und Kontrollen. 55 ml Nichthumane Protein/Puffermatrix (konzentriert, gebrauchsfertig) mit Konservierungsmittel. 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C oder 6 Monate bei –20°C haltbar.
L2IGZ2: 1 Fläsche

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2IGZ2: 5 Etiketten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substrat
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße
L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm) für die Probenverdünnung
L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Teströhrchen.

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Verdünnung, Kalibration, Test- und Qualitätskontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
2 Wochen

Proben zur Qualitätskontrolle:
Die im Lieferumfang enthaltenen Toxoplasma-IgM-(µ-Capture)-Kontrollen (LTZC1-2) dienen zur Qualitätskontrolle für die Überwachung des Testsystems im Cutoff-Bereich. Die Positivkontrolle dient zur Validierung des MMULITE 2000-Toxoplasma-IgM (µ-Capture) Tests, wenn bei der Untersuchung auf Toxoplasmose eine kritische Konzentration ausgewiesen wird.

Zusätzlich zu den mitgelieferten Kontrollen, können für eigenen Zwecke weitere Kontrollen eingesetzt werden.

Entsprechend den Richtlinien bzw. Vorschriften von regionalen bzw. staatlichen Behörden oder zertifizierenden Stellen können weitere Kontrollen getestet werden.

Es empfiehlt sich, regelmäßige Testansätze mit bekannten reaktiven und nichtreaktiven Proben durchzuführen, um die Pipettiergenauigkeit für den Verdünnungsschritt zu gewährleisten.

Kontrollen sollten zu Beginn eines jeden Testansatzes mit Patientenproben für Toxoplasma IgM und ebenfalls nach Neukalibration mitgeführt werden..

Anwendern des IMMULITE 2000 System wird empfohlen sich nach dem NCCLS Dokument C24-A zu richten: Interne Qualitätskontroll Testungen: Prinzipien und Definitionen "*Principles and Definitions, for additional guidance on quality control for the basic principles and definitions in dealing with internal quality control testing*".

Calculation of Cutoff and S/CO Ratio:
Zur Gewährleistung optimaler Sensitivität und Spezifität wurden repräsentative Proben zur Ermittlung des „Cutoff" verwendet.

Der „Cutoff" errechnet sich aus den Durchschnitts-Messwerten des Adjustors pro Sekunde (Mittelwert cps) multipliziert mit dem Kurvenparameter P1. (Siehe auch „Schwach-Positiv" Adjustor cps und Kurvenparameter 1 in der IMMULITE 2000 Kitinformationssoftware, die über das Menü „Data Entry / Kit Entry" erreicht werden kann).

Die Berechnung des Cutoff/Signal-Ratio (s/co-Ratio) erfolgt mittels folgender Formel:

$$\text{S/CO Index} = \frac{\text{Proben o. Kontroll cps}}{\text{Mittelwert Kalibrator cps} \times \text{P1}}$$

Die Berechnung der s/co-Ratio und die Angabe qualitativer Ergebnisse (reaktiv / nicht-reaktiv / grenzwertig) erfolgt automatisch durch das IMMULITE 2000.

Ein Ergebnis für eine Probe ist „grenzwertig", wenn die *cps* im Graubereich von ± 10% des Cutoffs liegen. Das Ergebnis ist „reaktiv", wenn der Messwert für die betreffende Probe *darüber* dem Graubereich liegt und „nicht-reaktiv", wenn es *unter* liegt.

Interpretation der Ergebnisse

Der Cutoff des IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) Assay wurde mit reaktiven und nicht-reaktiven Patientenproben durch eine ROC-Analyse und einer ausgewogenen Berücksichtigung von Sensitivität und Spezifität ermittelt.

Ein Ergebnis „**reaktiv**" (s/co Ratio of ≥ 1,1) weist darauf hin, dass Toxoplasma IgM Antikörper in der Patientenprobe nachgewiesen wurden.

Ein Ergebnis „**nicht-reaktiv**" (s/co Ratio < 0,9) weist darauf hin, Toxoplasma IgM Antkörper in der Patientenprobe nicht nachgewiesen wurden.

Lautet das Ergebnis „**grenzwertig**" (s/co Ratio 0,9 und < 1,1), so ist der Test zu wiederholen. Proben, die ein zweites Mal ein grenzwertiges Ergebnis bringen, sind entweder mit einer alternativen Methode zu testen, oder, sofern dies möglich ist,

innerhalb eines vernünftigen Zeitraums (z.B. einer Woche) mit einer neu entnommenen zweiten Probe zu teilen.

Sind IgM-Antikörper gegen *Toxoplasma gondii* vorhanden, so deutet dies auf eine kürzliche Exposition gegen den Erreger hin.[11]

Das Ausmaß, in dem die ermittelten Ergebnisse *(cps)* den Cutoff überschreiten, sagt nichts über die Gesamtmenge der erkannten Antikörper aus.

Von einer Interpretation der Ergebnisse wird abgeraten, wenn die Positiv- oder Negativkontrollen außerhalb des im Abschnitt „Quality Control“ (Qualitätskontrolle) angegebenen Bereiches liegen.

Die vom Labor an den Arzt weitergegebenen Ergebnisse sollten daher den folgenen Passus enthalten: „Die folgenden Ergebnisse wurden mit dem IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) EIA erzielt. Sie sind nicht mit den Ergebnissen der Testsystememm anderer Hersteller austauschbar.“

Die Diagnose einer akuten Infektion sollte nicht auf einem einzigen Testergebnis basieren. Beim Verdacht auf eine akute Infektion sollte eine Patientenprobe gleichzeitig auf IgG- und IgM-*Toxoplasma* Antikörper getestet werden.Die Ergebnisse sollten anhand der Empfehlungen in nachfolgend aufgeführten Tabelle interpretiert und wenn möglich eine neue Probe angefordert werden.

Anti-*Toxoplasma gondii* Ergebnis		
IgM	**IgG**	**Report/Interpretation**
Nicht-reaktiv	Nicht-reaktiv	Es wird angenommen, der Patient ist nicht infiziert und durchläuft keine akute Toxoplasma-Infektion. Bei bestehenden Symptomen sollte eine neue Probe innerhalb 3 Wochen eingesandt werden.
Nicht-reaktiv	Reaktiv	Aufgrund der Testergebnisse kann nicht entschieden werden, ob der Patient eine reaktivierte Toxoplasma-Infektion durchmacht oder nicht. Es hat den Anschein, der Patient hatte eine frühere Toxoplasma-Infektion, die mehr als ein Jahr zurückliegt.
Nicht-reaktiv	Grenzwertig	Eine neue Probe sollte angefordert werden. Der Patient hat warscheinlich keine akute Toxoplasma Infektion. Die Feststellung, ob der Patient eine frühere Toxoplasma Infektion duchlaufen hat ist anhand der Testergebnisse nicht möglich.
Grenzwertig	Nicht-reaktiv	Eine neue Probe zum Nachweis von Toxoplasma IgM-Antikörpern sollte angefordert werden. Es kann nicht festgestellt werden, ob eine akute Infektion vorliegt. Es hat den Anschein, dass der Patient keine frühere Toxoplasma-Infektion durchgemacht hat. Sofern die neue Probe reaktiv oder grenzwertig für Toxoplasma-IgM-Antikörper ist, sollte die Probe für weitere Untersuchungen an ein Referenzlabor für Toxoplasma-Infektionen geschickt werden.
Grenzwertig	Reaktiv	Eine neue Probe zum Nachweis von Toxoplasma IgM-Antikörpern sollte angefordert werden. Es kann nicht festgestellt werden, ob eine akute Infektion vorliegt oder der Patient eine akute Infektion durchgemacht. Es hat den Anschein, dass der Patient eine frühere Toxoplasma-Infektion durchgemacht hat. Sofern die neue Probe reaktiv oder grenzwertig für Toxoplasma-IgM-Antikörper ist, sollte die Probe für weitere Untersuchungen an ein Referenzlabor für Toxoplasma-Infektionen geschickt werden.
Grenzwertig	Grenzwertig	Eine neue Probe für weitere Untersuchungen sollte angefordert werden. Es kann nicht festgestellt werden, ob eine akute Infektion vorliegt oder der Patient eine frühere Infektion durchgemacht hat. Sofern die neue Probe reaktiv oder grenzwertig für Toxoplasma-IgM-Antikörper ist, sollte die Probe für weitere Untersuchungen an ein Referenzlabor für Toxoplasma-Infektionen geschickt werden.

Anti-*Toxoplasma gondii* Ergebnis		
IgM	**IgG**	**Report/Interpretation**
Reaktiv	Nicht-reaktiv	Eine neue Probe für weitere Untersuchungen sollte angefordert werden. Es ist unklar ob eine akute Toxoplasma-Infektion vorliegt. Aufgrund der Tatsache, dass keine IgG Antikörper vorliegen, ist es möglich, dass die Probe zu einem sehr frühen Zeitpunkt im Krankheitsverlauf entnommen wurde. Eine exakte Einschätzung ist derzeit nicht möglich.Die neue Probe sollte mit einem alternativen Toxoplasma-IgM Assay getestet werden. Sofern die neue Probe immer noch reaktiv bleibt, sollte sie in ein Toxoplasmose Referenzlabor für weitere Untersuchungen geschickt werden.
Reaktiv	Reaktiv	Es ist unklar ob eine akute Toxoplasma-Infektion vorliegt. Eine neue Probe für weitere Untersuchungen sollte angefordert werden. Da der Patient IgG-Antikörper reaktiv ist, ist es möglich, dass eine akute Toxoplasma-Infektion vorliegt. Die neue Probe sollte mit einem alternativen Toxoplasma-IgM Assay getestet werden. Sofern die neue Probe immer noch reaktiv für IgM und IgG-Antikörper ist, sollte sie in ein Toxoplasmose Referenzlabor für weitere Untersuchungen geschickt werden.
Reaktiv	Grenzwertig	Es kann nicht festgestellt werden, ob der Patient akut mit *Toxoplasma gondii* infiziert ist. Eine neue Probe für weitere Untersuchungen sollte angefordert werden. Es ist nicht festzustellen, ob der Patient eine frühere Infektion durchgemacht hat. Es ist möglich, dass die Probe zu einem sehr frühen Zeitpunkt im Kranheitsverlauf entnommen wurde. Die neue Probe sollte mit einem alternativen Toxoplasma-IgM Assay getestet werden. Sofern die neue Probe immer noch reaktiv für IgM –Antikörper ist und für IgG-Antikörper reaktiv / nicht-reaktiv /grenzwertig ist, sollte sie in ein Toxoplasmose Referenzlabor für weitere Untersuchungen geschickt werden.

Referenzwerte

Mit dem *Toxoplasma*-Erreger infizierte Personen zeigen charakteristischerweise unmittelbar vor oder bald nach dem Einsetzen von Symptomen nachweisbare Mengen an IgM-Antikörpern.[2] Die IgM-Titer gehen normalerweise innerhalb von vier bis sechs Monaten wieder zurück, können aber auf niedrigem Niveau bis zu einem Jahr lang präsent bleiben.[4] Bei Patienten mit Toxoplasmabedingter Chorioretinitis können üblicherweise keine IgM-Konzentrationen nachgewiesen werden.[4]

Die Prävalenz einer Toxoplasma-Infektion kann variieren in Abhängigkeit von verschiedenen Faktoren, wie Alter, Geschlecht, geographische Lage, sozio-ökonomischer Status, Rasse, verwendetem Test, Probenentnahme, Handhabung, sowie klinischer und epidemiologischer Geschichte der einzelnen Patienten. In den Vereinigten Staaten werden pro Jahr ca. 3000 Fälle einer kongenitalen Toxoplasmose berichtet, was einer durchschnittlichen Rate von 0,6 Fällen pro 1000 Geburten entspricht.[13]

Grenzen der Methode

Die Testergebnisse sind vor dem Hintergrund der klinischen Anamnese, der Beschwerden des Patienten sowie weiterer Laborbefunde zu bewerten. Die Testergebnisse des IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) Tests sind niemals für sich allein diagnostisch zu werten, sondern solllten immer unter Berücksichtigung des klinischen Bildes und den Ergebnissen anderer diagnostischer Methoden interpretiert werden.sind

Zur Bestimmung einer Serokonversion von *nichtreaktiv* zu *reaktiv* sollte während der Akut- und Rekonvaleszenzphase im Abstand von drei bis vier Wochen zwei Serumproben genommen werden. Die Probe aus der Akutphase sollte gelagert und parallel zur Rekonvaleszenzprobe getestet werden.

Die Ergebnisse bei HIV-Patienten sowie behandlungs- oder krankheitsbedingt immunsupprimierten Patienten sollten zurückhaltend interpretiert werden. Ein nicht-reaktives Toxoplasma IgM Ergebnis bei immunsuprimierten Patienten schliest

die Möglichkeit einer akuten Infektion nicht aus. *Toxoplasma gondii*-spezifische IgG Antikörper sind generell niedrig, und *Toxoplasma gondii*-spezifische IgM Antikörper können bei immunsupprimierten Patienten nicht nachweisbar sein

Die Eckdaten dieses Testsystems wurden nicht für den Gebrauch mit Proben von Neugeborenen, Nabelschnüren oder Patienten mit bevorstehender Organverpflanzung etabliert.

Um spezifische IgG- und rheumatoide Faktoren auszuschließen, die zu falsch reaktiven Ergebnissen führen können, wurden den Reagenzien Antikörper gegen humanes IgG beigefügt.

Der IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) Assay ist nicht für andere Probenmatrices außer für Serum und Plasma etabliert.

Das Vorliegen von IgM-Antikörpern in einer einzelnen Probe ist nicht ausreichend um zwischen einer aktiven oder durchgemachten Infektion zu unterscheiden. Patienten mit Verdacht auf eine primäre oder aktive Infektion sollten auf das Vorliegen von IgG-Antikörpern gegen *Toxoplasma gondii* getestet werden.

Wenn eine Behandlung frühzeitig verordnet wurde, ist die Antikörperproduktion vermindert und die IgG & IgM Spiegel bleiben niedrig, können aber über Jahre hinweg koexistieren.

Das dauerhafte Vorliegen oder das Fehlen von Antikörpern kann nicht dafür genutzt werden, um den Erfolg oder das Versagen einer Therapie zu bestimmen.

Reaktive Ergebnisse können möglicherweise bei Personen die Bluttransfusionen oder Blutprodukte innerhalb der letzten Monate erhalten haben, nicht valide sein.

Der Test sollte nicht für Screeningzwecke in der allgemeinen Bevölkerung durchgeführt werden. Der Vorhersagewert eines reaktiven oder nicht-reaktiven serologischen Ergebnisses ist von der Prävalenz des getesteten Kollektives abhängig. Eine Testung sollte nur durchgeführt werden, wenn ein klinischer Hinweis auf eine Toxoplasmose gegeben ist.

Dieser Test ist nicht für dei Bestimmung des Immunstatus vorgesehen. Er dient vielmehr zur Bestimmung der Patientenantikörperantwort, um einen Hinweis auf eine aktive Infektion zu erhalten und nicht als Hinweis auf eine Imunität.

Niedrige IgM-Spiegel können gelegentlich für länger als 12 Monate nach der Infektion persistieren. Solch eine verbliebene Antikörperantwort kann von einer frühen Antikörperantwort auf eine aktive Infektion unterschieden werden, indem Patientenseren 2–4 Wochen später erneut mit dem IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture)-Assay und mit Bezug auf sich verändernde *Toxoplasma* IgG – Antikörperspiegel getestet werden.

Spezifische IgM-Antikörper werden im Normalfall bei Patienten mit einer kürzlichen Primärinfektion nachgewiesen. Sie können aber auch in Patienten mit reaktivierten oder Sekundärinfektionen auftreten, manchmal werden Sie auch bei Patienten mit keinem nachweisbaren Beleg einer kürzlichen Infektion gefunden.

Proben die zu früh im Verlauf einer primären Toxoplasma-Infektion abgenommen wurden können möglicherweise noch keine nachweisbaren Spiegel von IgM-spezifischen Antikörpern haben. Bei manchen Patienten können nachweisbare IgM-Antikörper Spiegel innerhalb von drei Wochen nach einer *Toxoplasma*-Infektion zu nicht-reaktiven Spiegeln revertieren. Die Bestimmung von IgG-Antikörpern kann bei der serologischen Bewertung dieser Patienten hilfreich sein.

Bei Analyten mit niedriger Prävalenz, wie anti-*Toxoplasma*-IgM, besteht die gesteigerte Warscheinlichkeit, dass ein reaktives Ergebnis tatsächlich ein falsch-reaktives Ergebnis ist, was dann den positivenVorhersagewert reduziert.

Bedingt durch die hohe Sensitivität des Assays, sind Proben aus der subakuten Phase einer Toxoplasma-Infektion nachweisbar. Ergebnisse solcher Proben sollten unter Berücksichtigung klinischer Untersuchungen, der Patientienhistorie sowie anderer Daten weiter untersucht werden.

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 Verhältnis Signal/Cutoff dargestellt.

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Testansätzen in Doppelbestimmung gemessen (insgesamt 40 Bestimmungen und 80 Einzelmessungen). (Siehe Tabelle „Precision“.)

Kreuzreaktivität: Eine Studie wurde durchgeführt, um festzustellen, ob die Bestimmung von *Toxoplasma* IgM durch nah verwandte Mikroorganismen beeinflusst wird. 87 seronegative Seren, die Antikörper gegen Varicella Zoster Virus (*n*=3), Masern (*n*=10), Cytomegalovirus (CMV) (*n*=10), herpes simplex virus (*n*=10), *Toxoplasma* (*n*=10), *Mycoplasma pneumoniae* (*n*=10), Epstein-Barr Virus (*n*=10), Syphilis (*n*=10), Parvovirus (*n*=8) und Rheumafaktor (*n*=6) enthalten, wurden mit dem IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) getestet. Alle Seren ergaben nicht reaktive Ergebnisse.

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.

Biotin: Proben, die Biotin in einer Konzentration von 1500 ng/ml enthalten, zeigen eine Veränderung der Ergebnisse von kleiner oder gleich 10 %. Größere Biotin-Konzentrationen als diese können zu falschen Ergebnissen bei Patientenproben führen.

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 539 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride können in Konzentrationen bis zu 3000 mg/dl einen Einfluss auf die Ergebnisse haben. (Siehe Tabelle „Lipemia“).

Alternativer Probentyp: Um die Auswirkungen von verschiedenen Probenarten zu untersuchen, wurde Blut von 34 Freiwilligen in Röhrchen ohne Additiva, in Heparin- und Becton-Dickinson SST Plastik Vacutainer Röhrchen gesammelt. 11 Proben wurden mit Seren, die *Toxoplasma* IgM-Antikörper enthielten, gespiked und alle Proben mit dem IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) Verfahren getestet. Die Ergebnisse sind als Verhältnis Signal/Cutoff dargestellt. Durch lineare Regression:

(EDTA Plastik) = 1,02 (Serum Plastik) + 0,009
r = 0,998

(Heparin Plastik) = 1,00 (Serum Plastik) – 0,002
r = 0,996

(SST Plastik) = 1,03 (Serum Plastik) – 0,006
r = 0,994

Mittelwerte:
0,53 (Serum Plastik)
0,55 (EDTA Plastik)
0,54 (Heparin Plastik)
0,54 (SST Plastik)

In einem anderen Experiment wurde Blut von 40 Freiwilligen in Glas- und Plastik-Serum Becton Dickinson Vacutainer-Röhrchen entnommen. Alle Proben wurden im IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) Verfahren getestet. Die Ergebnisse sind als Verhältnis Signal/Cutoff dargestellt. Durch lineare Regression:

(Serum Plastik) = 1,00 (Serum Glas) + 0,010
r = 0,808

Mittelwerte:
0,11 (Serum Plastik)
0,10 (Serum Glas)

Methodenvergleich: Der Assay wurde mit einem kommerziell erhältlichen µ-capture Assay für *Toxoplasma* IgM (Kit A) anhand von 195 Proben verglichen:

	IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) (L2KTZ)		
Kit A	Pos	grenzw.	Neg
Reaktiv	18	1	0
Grenzwertig	1	0	1
Nicht-reaktiv	4	0	170

Totale Übereinstimmung: 96,4% (188/195)
Relative Sensitivität: 94,7% (18/19)
Relative Spezifität: 97,7% (170/174)
Positiver prädiktiver Wert: 78,3% (18/23)
Negativer prädiktiver Wert: 99,4% (170/171)

Klinische Leistungsdaten

In einer klinischen Studie, durchgeführt in Europa, wurden Proben von 452 Toxoplasma IgM negativen Patienten und 40 Proben von Patienten mit einer akuten *Toxoplasma* Infektion im IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) Verfahren getestet. Die Proben wurden analysiert und die *Toxoplasma* IgM Positiv- und Negativbefunde wurden mittels gut etablierter diagnostischer Methoden, klinischen Befunden und serologischer Muster bestätigt. Von den 452 Patienten, die als *Toxoplasma* IgM negativ definiert wurden, waren 396 positiv für *Toxoplasma* IgG, was eine latente oder weiter zurückliegende Infektion wiederspiegelt. Von diesen 396 Patienten mit einer latenten Infektion stammten 293 von Schwangeren, aus allen Stadien der Schwangerschaft. Die nachfolgenden Tabellen zeigen die Ergebnisse der Studie:

Vergleich für alle Patienten:

	Klinisch definierte Proben		
IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM µ-Capture (L2KTZ)	Pos	grenzw.	Neg
Reaktiv	40	0	20
Grenzwertig	0	0	6
Nicht-reaktiv	0	0	426

Mit grenzwertigen Fällen:
Übereinstimmung: 95,9% (472/492); Sensitivität: 100% (40/40); Spezifität: 95,6% (432/452)

Ohne grenzwertige Fälle:
Übereinstimmung: 95,9% (466/486); Sensitivität: 100% (40/40); Spezifität: 95,5% (426/446)

Vergleich für Schwangere:

	Klinische definierte Proben		
IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM µ-Capture (L2KTZ)	Positiv	Indet	Negativ
Reaktiv	0	0	14
Grenzwertig	0	0	5
Nicht-reaktiv	0	0	274

Mit grenzwertigen Fällen:
Spezifität: 95,2% (279/293)

Ohne grenzwertige Fälle:
Spezifität: 95,1% (274/288)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura)

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE 2000 — para la presunta detección cualitativa de anticuerpos de IgM contra *Toxoplasma gondii* en suero humano o plasma (EDTA o heparinizado), particularmente en mujeres en edad fertil. Cuando se realiza junto con el ensayo Toxoplasma IgG, puede ser utilizado como ayuda en el diagnóstico de una infección aguda, reciente o reactivada por *Toxoplasma gondii*.

Referencia: **L2KTZ2** (200 tests)

Código del Test: **TXU**
Código de Color: **Violeta**

Este kit no tiene autorización de la FDA para su uso en pruebas (detección precoz) de donantes de sangre o plasma.

Resumen y Explicación del Test

Toxoplasma gondii es un parásito intracelular obligado, capaz de infectar a la mayoría de los mamíferos, incluyendo al humano. El organismo se transmite por ingestión de carne poco cocinada. Por todo el mundo, del 1 al 90% de la población puede ser infectada[7], con un 25–30 por ciento de la población adulta de Estados Unidos infectada[3]. Mientras que la toxoplasmosis puede manifestarse de diversas formas, las infecciones son normalmente clínicamente inaparentes, y las infecciones latentes persisten normalmente durante toda la vida[2]. Los síntomas clínicos son similares a los de una infección por mononucleosis, con linfadenopatía, fiebre, dolor de cabeza, malestar general y algunas veces neumomía y miocarditis[6].

Al igual que otras infecciones latentes, la infección aguda por toxoplasma puede presentar una serie amenaza para los individuos inmunocomprometidos y los recién nacidos, quienes adquieren la infección *en el utero*. Los individuos inmunosuprimidos pueden desarrollar encefalitis, miocarditis o neumonitis[3]. Las infecciones congénitas normalmente resultan como consecuencia de una infección aguda asintomática en la madre. Esta infección puede causar: parto prematuro, aborto espontáneo o el nacimiento sin vida del feto[4,6]. Los neonatos pueden presentar coriorretinitis, hidrocefalia, microcefalía, calcificación cerebral y retraso psicomotor[1]. La mayoría de los niños infectados congénitamente no mostrarán ningún síntoma hasta más tarde[4].

El seguimiento de la toxoplasmosis requiere el control serológico de los individuos infectados[3], ya que el cultivo de este organismo no es posible. Un análisis cuantitativo para estudiar la presencia de IgG contra toxoplasma puede ser útil para determinar una infección anterior e indicar la reactivación de la infección. Una información precisa del diagnóstico es importante, especialmente durante el embarazo, puesto que el tratamiento con espiramicina puede reducir los riesgos para el feto[5].

Principio del análisis

IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura) es un inmunoensayo de µ-captura de anticuerpo IgM quimioluminiscente en fase sólida de dos pasos. La fase sólida, una bola de poliestireno, está recubierta con un anticuerpo anti-IgM murino monoclonal.

La muestra del paciente y la bola recubierta son añadidas al Tubo de Reacción. Además, se añade un antígeno de *Toxoplasma* marcado con fosfatasa alcalina. Después de los pasos de lavado y centrifugación, el sustrato quimioluminiscente experimenta una hidrólisis en presencia de la fosfatasa alcalina. IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura) es un ensayo inmunométrico. La producción de fotones, medidos por el luminómetro, están relacionados con la presencia de anticuerpos IgM de *Toxoplasma* en la muestra.

Ciclos de incubación: 2 × 30 minutos

Recogida de la muestra

El paciente no necesita estar en ayunas así como tampoco cualquier otro tipo de preparación.

Recoger la muestra de sangre asépticamente por venipunción[12], evitando la hemólisis, en tubo seco, heparinizado o con EDTA, y separar suero o plasma de las células.

Se recomienda el uso de una ultracentrífuga para aclarar las muestras lipémicas.

Las muestras hemolizadas podrían indicar una mala manipulación de la muestra antes de ser recibida por el laboratorio; en este caso, los resultados deben interpretarse con precaución.

Las muestras que estén turbias o tengan un material particular deben aclararse mediante una centrifugación a baja velocidad.

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. IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura) 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: 10 µl suero o plasma

Conservación: 3 días a 2–8°C, o 6 meses a –20°C[10].

Factor de Predilución automatico: 20

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.



¡PRECAUCIÓN! RIESGO BIOLÓGICO POTENCIAL
Contiene material de origen humano. Cada donación de sangre humana o componente sanguíneo ha sido probada por métodos aprobados por la FDA con el fin de detectar la presencia de anticuerpos de los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2), así como el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y el anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (VHC). Los resultados de estas pruebas fueron negativos (no repetidamente reactivos). Ninguna prueba ofrece total garantía de que en las muestras no haya estos agentes infecciosos u otros; por tanto, este material se deberá manipular conforme a las prácticas recomendables de laboratorio y las precauciones universales.[14-16]

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.



H412, H311, H302

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

¡Peligro! Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. Tóxico en contacto con la piel. Nocivo en caso de ingestión.
Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. Evitar su liberación al medio ambiente. EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico en caso de malestar. EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Llamar a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico en caso de malestar. Eliminar el contenido y el recipiente de acuerdo con las normativas locales, regionales y nacionales.
Contiene: azida de sodio; Ajustador de Toxoplasma IgM (µ-Captura), Controles de Toxoplasma IgM (µ-Captura)

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.

Debido a que ningún test puede ofrecer la completa seguridad de que las muestras de un laboratorio no contienen VIH, virus de Hepatitis B u otros agentes infecciosos, dichas muestras deben ser manipuladas en el BSL 2 como recomendadas para cualquier muestra de suero o sangre humana potencialmente infecciosa en el manual del CDC-NIH, *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 1993.*

Se ha usado Azida sódica, en concentraciones menores de 0,1 g/dl, como conservante. Para su eliminación, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion 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.

Los resultados determinados para una muestra dada mediante ensayos de distintos fabricantes pueden variar debido a diferencias en los métodos de ensayo y a la especificidad del reactivo. Los resultados enviados por el laboratorio al médico deberían incluir lo siguiente: "Se han obtenido los resultados siguientes con EIA para IgG contra Toxoplasma IgM (µ-Captura) IMMULITE 2000. Los resultados obtenidos por los métodos de ensayo de otros fabricantes no se pueden usar de forma intercambiable".

El/los Ajustador y Control(es) suministrados con el kit deben disolverse completamente. Si no se asegura la homogeneidad de la solución, puede reducirse la reproductibilidad de los resultados.

Materiales suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

Cartucho de bolas de Toxoplasma IgM (µ-Captura) (L2TZ12)
Con código de barras. 200 bolas, recubiertas con el anticuerpo monoclonal murino anti-IgM humano. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KTZ2: 1 cartucho

Vial de reactivo de Toxoplasma IgM (µ-Captura) (L2TZA2)
Con códigos de barras. Dos Reactivos: 11,5 ml de tampón proteico. 11,5 ml de fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada al antígeno P-30 de *Toxoplasma*, en tampón. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KTZ2: 1 vial

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.

Ajustador de Toxoplasma IgM (µ-Captura) (LTZR)
Suero humano con IgM reactivo para toxoplasma liofilizada, en solución tampón, con conservante. El ajustador sirve como valor de corte del ensayo. Reconstituya cada vial con **4,0 ml** de agua destilada o desionizada. Mezcle por agitación o inversión suave hasta que se haya disuelto completamente el material liofilizado. (No es necesaria ninguna dilución más.) Estable a 2–8°C durante 14 días después de la reconstitución, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KTZ2: 1 vial

Controles de Toxoplasma IgM (µ-Captura) (LTZC1, LTZC2)
LTZC1 (Control negativo): Un vial con suero humano liofilizado no reactivo a *Toxoplasma*, con conservante. **LTZC2 (Control Positivo):** Un vial con suero humano liofilizado con IgM reactivo a *Toxoplasma*, con conservante. Reconstituya cada vial con **2,0 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 14 días después de la reconstitución, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KTZ2: 1 juego

El software del IMMULITE 2000 realiza una dilución automática en el instrumento de las muestras de los controles, y los resultados serán mostrados en la base de datos del control de calidad. Introduzca los controles como controles en la Lista de trabajo.

Para los intervalos de control actuales, por favor consulte el prospecto del Control.

Las Etiquetas de Alícuotas con código de barras son suministradas en el kit para el uso de los ajustadores y controles. Antes de su uso, colocar las Etiquetas de Alícuotas apropiadas en los tubos de test, de este modo los códigos de barras pueden ser leidos por el lector en el IMMULITE 2000.

Diluyente de IgG/IgM (L2IGZ2)
Para la dilución de las muestras del paciente y controles que van a analizarse. 55 ml matriz proteica no humana en solución tampón concentrado (listo para usarse), con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise

o estable a –20°C durante 6 meses.
L2KTZ2: 1 vial

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 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2KTZ2: 3 etiquetas

Componentes del kit que se suministran por separado

Diluyente de IgG/IgM (L2IGZ2)
Para la dilución de las muestras del paciente y controles que van a analizarse. 55 ml matriz proteica no humana en solución tampón concentrado (listo para usarse), con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise o estable a –20°C durante 6 meses.
L2IGZ2: 1 vial

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 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2IGZ2: 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 × 100 mm)
L2ZC: 250 Casquillos Del Tubo Del Diluyente De la Muestra

También necesarios
Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo.

Ensayo

Aviso: para obtener un funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajsute recomendado:
2 semanas

Muestras e Control de Calidad:
Los controles de Toxoplasma IgM (µ-Captura) (LTZC1-2) suministrados en el kit deben usarse como control de calidad para monitorizar la realización del ensayo en el rango del punto de corte. El Control Positivo se utiliza para validar el ensayo IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura) en un nivel crítico cuando se determina la presencia de una infección activa por *Toxoplasma*.

Además de los controles suministrados, el usuario puede utilizar otros controles adicionales para sus propios propósitos si así lo desea.

Se pueden testar otros controles de acuerdo a las guías o requerimientos locales o estatales u organizaciones acreditadas.

También se recomienda analizar periódicamente muestras conocidas, reactivas o no reactivas, para asegurar la precisión del pipeteado para el paso de dilución.

Los controles deben ser procesados al comienzo de cada jornada de trabajo que contenga muestras de pacientes para ser testadas de Toxoplasma IgM, también en los reajustes.

Se aconseja a los usuarios del sistema IMMULITE 2000 consultar el documento C24-A del NCCLS, Test de Control de Calidad Interno: Principios y Definiciones, como guía adicional de control de calidad para los principios básicos y definiciones en relación con el test de control de calidad interno.

Cálculo del Cutoff Ratio S/CO: El valor de corte del ensayo se determinó a partir de muestras representativas para obtener una sensibilidad y especificidad óptimas para el ensayo.

El cutoff es obtenida de la media de las cuentas por segundo (media de cps) del ajustador bajo (del ajuste mas reciente) multiplicada por el parametro 1 de la curva. (Ver “Low Adjustor CPS” and “Curve Parameter 1” dentro de la pantalla de Información de Kit en el IMMULITE 2000.)

El cálculo del ratio cutoff/señal (s/co) se realiza utilizando la formula siguiente:

$$\text{S/CO Ratio} = \frac{\text{Muestra o Control cps}}{\text{Media cps Adjustador} \times \text{P1}}$$

El cálculo nos mostrará un informe cualitativo (reactivo / no reactivo / indeterminado) y se mostrarán automaticamente por el IMMULITE 2000.

El resultado para una muestra es informado como “Indeterminado” si las cuentas por segundo para la muestra entran dentro del ±10% del cutoff. El resultado es informado como “Reactivo” si las cuentas de la muestra están sobre este rango indeterminado, y “No reactivo” si están por debajo del rango.

Interpretación de los resultados

El punto de corte del ensayo IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura) se determinó como reactivo y no reactivo mediante un análisis ROC con una consideración equilibrada entre sensibilidad y especificidad.

Un resultado **"Reactivo"** (ratio ≥ 1.1) indica que la muestra del paciente es reactiva y que se detectaron anticuerpos IgM frente a *Toxoplasma*.

Un resultado **"No reactivo"** (ratio < 0.9) indica que la muestra del paciente es no reactiva y que no se detectaron anticuerpos IgM frente a *Toxoplasma*.

Debe repetirse la prueba para cualquier resultado **"Indeterminado"** (ratio s/co entre 0,9 y < 1,1). Las muestras cuyos resultados siguen siendo "Indeterminados" deben continuar analizándose por un método diferente, o bien debe tomarse una segunda muestra, si es posible, dentro de un periodo de tiempo razonable (por ejemplo, una semana).

La presencia de anticuerpos IgM para Toxoplasma indica una exposición previa al virus[11].

La magnitud de los resultados medidos (cps) por encima del valor de corte no es indicativa de la cantidad total de anticuerpos detectados.

No se recomienda la interpretación de los resultados si el control positivo o negativo se encuentra fuera del rango especificado en la sección de Control de Calidad.

Los informes del Laboratorio dirigidos al clínico deben incluir: “Los siguientes resultados se han obtenido mediante el EIA IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura). Los valores obtenidos con otros fabricantes de métodos de ensayo no pueden ser intercambiados.”

El diagnóstico de infección aguda no debe basarse en un único resultado. Si se sospecha de una infección aguda, la muestra del paciente debe testarse para la presencia de anticuerpos IgG e IgM específicos. Los resultados deben interpretarse de acuerdo a las guías proporcionadas en la siguiente tabla y con una nueva muestra obtenida, si es pertinente.

Resultados Anti-*Toxoplasma gondii*		
IgM	**IgG**	**Informe/Interpretación**
No reactivo	No reactivo	Se supone que el paciente no ha sido infectado y que no esta sufriendo una infección aguda por *Toxoplasma gondii.* Si los síntomas persisten obtener una nueva muestra en un plazo de tres semanas.
No reactivo	Reactivo	Con este resultado no se puede determinar si el paciente esta o no esta sufriendo una infección reactivada por *Toxoplasma gondii.* Parece que el paciente ha sido previamente infectado con *Toxoplasma gondii*. La infección ocurrio hace más de una año.
No reactivo	Dudoso	Es necesario obtener una nueva muestra para otro análisis. El paciente podría no estar sufriendo una infección aguda por *Toxoplasma gondii*. No es posible determinar si el paciente ha sido previamente infectado con *Toxoplasma gondii.*

Resultados Anti-*Toxoplasma gondii*		
IgM	**IgG**	**Informe/Interpretación**
Dudoso	No reactivo	Es necesario obtener una nueva muestra para determinar la presencia de anticuerpos IgM frente a *Toxoplasma gondii.* No se puede determinar si el paciente esta sufriendo una infección aguda por *Toxoplasma gondii.* Parece que el paciente no ha sido previamente infectado con *Toxoplasma gondii*. Si el resultado de la nueva muestra es reactivo o dudoso para los anticuerpos IgM, debe mandarse la muestra a un laboratorio de referencia con experiencia en el diagnóstico de toxoplasmossis para un nuevo análisis.
Dudoso	Reactivo	Es necesario obtener una nueva muestra para determinar la presencia de anticuerpos IgM frente a *Toxoplasma gondii.* No se puede determinar si el paciente ha estado o esta sufriendo una infección aguda por *Toxoplasma gondii.* Parece que el paciente ha sido previamente infectado con *Toxoplasma gondii*. Si el resultado de la nueva muestra es dudoso o reactivo para los anticuerpos IgM, debe mandarse la muestra a un laboratorio de referencia con experiencia en el diagnóstico de toxoplasmosis para un nuevo análisis.
Dudoso	Dudoso	Es necesario obtener una nueva muestra para otro análisis. No se puede determinar si el paciente esta sufriendo una infección aguda o ha sido previamente infectado con *Toxoplasma gondii.* Si el resultado de la nueva muestra es dudoso o reactivo para los anticuerpos IgM, debe mandarse la muestra a un laboratorio de referencia con experiencia en el diagnóstico de toxoplasmosis para un nuevo análisis

Resultados Anti-*Toxoplasma gondii*		
IgM	**IgG**	**Informe/Interpretación**
Reactivo	No reactivo	Es necesario obtener una nueva muestra para otro análisis. El paciente podría o no estar sufriendo una infección aguda por *Toxoplasma gondii.* Dado que el análisis de los anticuerpos IgG frente a *Toxoplasma gondii* es no reactivo, la muestra podría haber sido obtenida en una etapa demasiado temprana de la enfermedad como para obtener un resultado preciso. Es necesario analizar la nueva muestra con un ensayo anti-*Toxoplasma gondii* IgM diferente. Si el resultado de la nueva muestra sigue siendo reactivo para los anticuerpos IgM, debe mandarse la muestra a un laboratorio de referencia con experiencia en el diagnóstico de toxoplasmossis para un nuevo análisis.
Reactivo	Reactivo	El paciente podría o no estar sufriendo una infección aguda por *Toxoplasma gondii.* Es necesario obtener una nueva muestra para otro análisis. Dado que el análisis de los anticuerpos IgG frente a *Toxoplasma gondii* es reactivo, parece que el paciente podría estar estar sufriendo una infección aguda por *Toxoplasma gondii.* La nueva muestra debe ser analizada con un ensayo anti-*Toxoplasma gondii* IgM diferente. Si el resultado de la nueva muestra sigue siendo reactivo para los anticuerpos IgM e IgG frente a *Toxoplasma gondii*, debe mandarse la muestra a un laboratorio de referencia con experiencia en el diagnóstico de toxoplasmosis para un nuevo análisis.

Resultados Anti-*Toxoplasma gondii*		
IgM	**IgG**	**Informe/Interpretación**
Reactivo	Dudoso	No se puede determinar si el paciente esta o no esta sufriendo una infección aguda por *Toxoplasma gondii.* Es necesario obtener una nueva muestra para otro análisis. No es posible determinar si el paciente ha sido previamente infectado con *Toxoplasma gondii.* La muestra podría haber sido obtenida en una etapa demasiado temprana de la enfermedad como para obtener un resultado preciso. La nueva muestra debe ser analizada con un ensayo anti-*Toxoplasma gondii* IgM diferente. Si el resultado de la nueva muestra sigue siendo reactivo para los anticuerpos IgM y reactivo / no reactivo /dudoso para los anticuerpos IgG frente a *Toxoplasma gondii*, debe mandarse la muestra a un laboratorio de referencia con experiencia en el diagnóstico de toxoplasmosis para un nuevo análisis.

Valores esperados

Los individuos infectados por el organismo *Toxoplasma* mostrarán normalmente niveles detectables de anticuerpos IgM inmediatamente antes o después del comienzo de los síntomas[2]. Los títulos de IgM normalmente disminuyen a los 4–6 meses, pero los niveles persisten con niveles bajos hasta un año[4]. Los pacientes con coriorretinitis por toxoplasma activo normalmente no muestran niveles detectables de IgM[4].

La prevalencia de la toxoplasmosis puede variar dependiendo de diferentes factores como edad, sexo, localización geográfica, nivel socio-económico, raza, tipo de análisis utilizado, recogida de muestra e historia clínica y epidemiológica de cada paciente. Aproximadamente se informan de 3000 nuevos casos de toxoplasmosis congénita cada año, con una media de 0,6 casos por cada 1000 embarazos en Estados Unidos[13].

Limitaciones

Los resultados del análisis deben contemplarse en el contexto del historial clínico de los pacientes, de su sintomatología y de los demás hallazgos del laboratorio. Los resultados del kit IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura) no son por si mismos motivo de diagnóstico y deben ser interpretados junto con la clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

Para determinar la seroconversión de *no reactivo* a *reactivo,* deben recogerse dos muestras de suero en un periodo de 3–4 semanas, durante la fase aguda y de convalecencia de la infección. La muestra de la fase aguda debe almacenarse y analizarse paralelamente a la muestra de la fase de convalecencia.

Los resultados de pacientes infectados con el virus VIH, pacientes sometidos a una terapia inmunosupresiva, o en pacientes con otros desórdenes que originen inmunosupresión, deben interpretarse con cautela. Un resultado no reactivo para IgM *Toxoplasma* IgM no descarta la posibilidad de una infección aguda en pacientes inmunocomprometidos. Los anticuerpos específicos IgG *Toxoplasma gondii* son generalmente bajos, y los anticuerpos específicos IgM *Toxoplasma gondii* pueden ser indetectables en pacientes inmunocomprometidos.

Las características de rendimiento de este ensayo no se han establecido para su uso con muestras de recién nacidos, sangre del cordón umbilical o pacientes pretrasplantados.

Se han añadido los anticuerpos contra IgG humana a los reactivos para eliminar el IgG específico y factor reumatoide, que pueden producir resultados de falsos reactivos.

La realización del ensayo IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura) no se ha establecido para otras muestras que no sean suero o plasma.

La presencia de anticuerpos IgM en una única muestra no es suficiente para distinguir entre infección activa o pasada.Los pacientes sospechosos de tener una infección primaria o activa deben testarse para la presencia de anticuerpos IgG a *Toxoplasma gondii*.

Si se prescribe un tratamiento temprano, la producción de anticuerpos disminuye y los niveles de IgG e IgM permanecen bajos y pueden coexistir durante años.

La presencia continuada o ausencia de anticuerpos no puede utilizarse como indicador del éxito o fracaso del tratamiento.

Los resultados reactivos pueden no ser validos en personas que hayan recibido transfusiones sanguíneas u otros productos en meses pasados.

Los tests no deben realizarse como procedimiento de cribado en la población general. El valor predictivo de un resultado serológico reactivo o no reactivo depende de la probabilidad pre-test de que la toxoplasmosis esté presente. El test dee ser realizado únicamente cuando las evidencias clínicas sugieran el diagnóstico de toxoplasmosis.

Este test no se ha previsto para la determinación del estado inmune. Se ha previsto para la determinación de la respuesta de los anticuerpos del paciente para indicar la presencia de una infección activa por *Toxoplasma gondii* y no como indicación de inmunidad.

Niveles bajos de anticuerpos IgM pueden persistir ocasionalmente más de 12 meses después de la infección. Tal respuesta de anticuerpos residuales puede distinguirse de una respuesta IgM temprana de infección activa mediante el test de sueros del paciente 2–4 semanas después utilizando el kit IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura) y con referencia a los niveles de anticuerpos IgG.

Los anticuerpos específicos IgM se detectan habitualmente en pacientes con infección primaria reciente, pero también pueden encontrarse en pacientes con reactivación o infecciones secundarias, y algunas veces en pacientes con ninguna evidencia detectable de infección reciente.

Las muestras recogidas muy pronto en el curso de una infección primaria por *Toxoplasma gondii* podrían no contener niveles detectables de anticuerpos IgM específicos. En algunos pacientes, los resultados de anticuerpos IgM específicos podrían revertir a niveles no reactivos en el plazo de tres semanas tras la infección con *Toxoplasma gondii*. La medición de los anticuerpos IgG específicos podría ser un valor util en el seguimiento serológigo de estos pacientes.

Con analitos de muy baja frecuencia, como los anti-*Toxoplasma gondii* IgM, hay una probabilidad aumentada de que un resultado reactivo sea realmente un falso reactivo, disminuyendo el valor predictivo positivo del ensayo.

Debido a la alta sensibilidad del ensayo, las muestras procedentes de una infección subaguda por toxoplasma podrían ser detectables. Los resultados de estas muestras deben ser evaluados adicionalmente en el contexto del examen clínico, historia del paciente y otros hallazgos.

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 expresaron como una relación señal(cps)/valor de corte.

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".)

Reactividad Cruzada: Se realizó un estudio para evaluar si la medición del anticuerpo *Toxoplasma* IgM se veía afectada por microrganismos estrechamente relacionados. 87 sueros seronegativos que contenian anticuerpos frente al virus de Varicela Zoster (*n*=3), Sarampion (*n*=10), Cytomegalovirus (CMV) (*n*=10), herpes simple (*n*=10), *Toxoplasma* (*n*=10), *Mycoplasma pneumoniae* (*n*=10), Epstein-Barr (*n*=10), Sifilis (*n*=10), Parvovirus (*n*=8) y factor reumatoide (*n*=6) fueron analizados con el ensayo IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura), y todos proporcionaron resultados no reactivos.

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.

Biotina: Las muestras que contienen biotina en una concentración de 1500 ng/ml han demostrado un cambio igual o inferior al 10% en los resultados. Una concentración de biotina superior a esta puede producir resultados incorrectos para las muestras del paciente.

Hemólisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 539 mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Lipemia: La presencia de triglicéridos en concentraciones hasta 3000 mg/dl puede tener efecto en los resultados. (Ver la Tabla "Lipemia".)

Tipo de Muestra Alternativa: Para valorar el efecto de los tipos de muestra alternativa, se recogió sangre de 34 voluntarios en tubos vacutainer sin anticoagulante, heparinizados, con EDTA y SST Becton Dickinson de plástico. Once muestras se inocularon con sueros que contenían anticuerpos IgM frente a *Toxoplasma*, y todas las muestras se ensayaron por el procedimiento IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura). Los resultados se expresaron como una relación señal (cps)/valor de corte. Por regresión lineal:

(EDTA Plástico) = 1,02 (Suero Plástico) + 0,009
r = 0,998

(Heparina Plástico) = 1,00 (Suero Plástico) – 0,002
r = 0,996

(SST Plástico) = 1,03 (Suero Plástico) – 0,006
r = 0,994

Medias:
0,53 (Suero Plástico)
0,55 (EDTA Plástico)
0,54 (Heparina Plástico)
0,54 (SST Plástico)

En otro experimento, se recogió sangre de 40 voluntarios en tubos de suero vacutainer de cristal y plástico de Becton Dickinson. Todas las muestras se ensayaron por el procedimiento IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura). Los resultados se expresaron como una relación señal(cps)/valor de corte. Por regresión lineal:

(Suero Plástico) = 1,00 (Suero Cristal) + 0,010
r = 0,808

Medias:
0,11 (Suero Plástico)
0,10 (Suero Cristal)

Comparación de los métodos: El ensayo se comparó con otro ensayo de µ-captura disponible comercialmente para *Toxoplasma* IgM (Kit A) sobre 195 muestras:

	IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura) (L2KTZ)		
Kit A	Pos	Ind	Neg
Reactivo	18	1	0
Indeterminado	1	0	1
No reactivo	4	0	170

Concordancia total: 96,4% (188/195)
Sensibilidad relativa: 94,7% (18/19)
Especificidad relativa: 97,7% (170/174)
Valor Predictivo Positivo: 78,3% (18/23)
Valor Predictivo Negativo: 99,4% (170/171)

Rendimiento clínico

En un estudio clínico realizado en Europa, se evaluaron por el procedimiento IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura) muestras de 452 pacientes definidos como *Toxoplasma* IgM negativos y 40 definidos como infección en fase aguda por *Toxoplasma*. Las muestras se analizaron y las indicaciones de *Toxoplasma* IgM positivo y negativo se definieron por métodos diagnósticos bien establecidos, hallazgos clínicos y patrones serológicos. De los 452 pacientes definidos como pacientes *Toxoplasma* IgM negativos, 396 fueron *Toxoplasma* IgG positivos, reflejando una infección

latente o lejana. Entre esos 396 pacientes con infección latente, 293 se recogieron de mujeres embarazadas representantes de todas las etapas del embarazo. Los resultados de este estudio se presentan en la tabla de abajo.

Comparación de todos los Sujetos:

	Muestras Definidas Clínicamente		
IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM µ-Captura (L2KTZ)	Pos	Ind	Neg
Reactivo	40	0	20
Indeterminado	0	0	6
No reactivo	0	0	426

Con Casos Indeterminados:
Concordancia: 95,9% (472/492); Sensibilidad: 100% (40/40); Especificidad: 95,6% (432/452)

Sin Casos Indeterminados:
Concordancia: 95,9% (466/486); Sensibilidad: 100% (40/40); Especificidad: 95,5% (426/446)

Comparación de las Mujeres Embarazadas:

	Muestras Definidas Clínicamente		
IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM µ-Captura (L2KTZ)	Pos	Ind	Neg
Reactivo	0	0	14
Indeterminado	0	0	5
No reactivo	0	0	274

Con Casos Indeterminados:
Especificidad: 95,2% (279/293)

Sin Casos Indeterminados:
Especificidad: 95,1% (274/288)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

IMMULITE 2000 Toxoplasmose IgM (µ-Capture)

Domaine d'utilisation : Strictement réservé à un usage diagnostique *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000. Dosage qualitatif pour la recherche d'anticorps IgM anti *Toxoplasma gondii* dans le sérum humain ou le plasma (EDTA ou héparine) particulièrement chez les femmes en âge de procréer. Si le dosage est effectué en parallèle avec un dosage des IgG anti Toxoplasmose, le test IMMULITE 2000 Toxoplasmose IgM (µ-Capture) peut être utilisé comme une aide au diagnostic d'infection aiguë, d'infection récente ou de réactivation dues à *Toxoplasma gondii*.

Référence catalogue : **L2KTZ2** (200 tests)

Code produit : **TXU**
Code couleur : **violet**

Ce coffret n'est pas habilité auprès de la *Food and Drug Administration* américaine pour le dépistage des donneurs de sang ou de plasma.

Introduction

Toxoplasma gondii est un parasite intracellulaire capable d'infecter la plupart des mammifères, y compris l'homme. Le parasite se transmet par l'ingestion de viande insuffisamment cuite. Dans le monde, 1 à 90 % des populations est susceptible d'être infecté,[7] 25 à 30 % de la population adulte étant infecté au Etats-Unis.[3] Pour la France, 30 à 60 % de la population est infectée. Même si la toxoplasmose peut se manifester sous plusieurs formes, les individus infectés restent généralement asymptomatiques et une infection latente persiste habituellement toute la vie.[2] Les symptômes cliniques visibles sont similaires à ceux de la mononucléose infectieuse, avec une lymphadénopathie, de la fièvre, des céphalées, une sensation de malaise et, parfois, une pneumonie et une myocardite.[6]

Comme toute infection latente, une infection aiguë par *Toxoplasma gondii* peut représenter un risque sérieux pour un individu immunodéprimé ou pour un nouveau-né infecté *in utero*. Les patients immunodéprimés infectés sont susceptibles de développer une encéphalite, une myocardite ou une pneumopathie inflammatoire.[3] Les infections congénitales proviennent habituellement d'une infection maternelle aiguë asymptomatique. Cette infection peut se traduire par une naissance prématurée, un avortement spontané ou la naissance d'un enfant mort-né.[4,6] Le nouveau-né peut présenter une choriorétinite, une hydrocéphalie, une microcéphalie, des calcifications intra-craniennes et un retard psychomoteur.[1] La plupart des enfants infectés *in utero* sont asymptomatiques dans les premiers temps de vie.[4]

Dans la mesure où le parasite n'est pas facile à mettre en culture, la prise en charge de la toxoplasmose demande un contrôle sérologique régulier des individus infectés.[3] Un dosage quantitatif d'IgG spécifiques dirigées contre *Toxoplasma gondii* peut être utile pour mettre en évidence une infection antérieure et révéler une réactivation de l'infection. Un diagnostic précis est important, en particulier au cours de la grossesse, puisqu'un traitement par la spiramycine pourra réduire les risques encourus par le fœtus.[5]

Principe du test

L'IMMULITE 2000 Toxoplasmose IgM (µ-Capture) est un immunodosage en phase solide, en deux étapes, utilisant la chimiluminescence par amplification enzymatique des anticorps anti-IgM par µ-capture. La phase solide, une bille de polystyrène, est revêtue d'un anticorps monoclonal murin anti-IgM.

L'échantillon patient et la bille coatée sont ajoutés dans le tube réactionnel. Un antigène de *Toxoplasma* marqué à la phosphatase alcaline est agalement ajouté dans le tube réactionnel. Après les étapes de lavage et d'incubation, le substrat chimiluminescent subit une hydrolyse en présence de la phosphatase alcaline. IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture) est un dosage immunométrique. Les photons émis, mesurés par la luminomètre, sont en relation avec la présence d'anticorps *Toxoplasma* IgM dans l'échantillon.

Cycles d'incubation : 2 × 30 minutes

Recueil des échantillons

Le patient n'a pas besoin d'être à jeun et aucune préparation spéciale n'est requise.

Prélever le sang par ponction veineuse aseptique[12], en évitant l'hémolyse, dans des tubes secs, hépariné ou EDTA, et séparer le sérum ou la plasma des cellules.

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.

Les échantillons troubles ou présentant des particules en suspension devront être clarifiés par centrifugation à vitesse réduite.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dûs 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 IMMULITE 2000 Toxoplasmose IgM (µ-Capture) 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 : 10 µl de sérum ou de plasma

Conditions de conservation :
3 jours à 2–8°C ou 6 mois à –20°C.[10]

Facteur de prédilution automatique : 20

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.



AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL
Contient du matériel d'origine humaine. Chaque don de sang ou de composant sanguin humain a été testé selon des méthodes homologuées par la FDA afin de détecter la présence d'anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2), ainsi que la présence d'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) et d'anticorps anti-virus de l'hépatite C (VHC). Les résultats de ces tests se sont révélés négatifs (ou positifs mais de façon non répétable). Aucun test ne peut garantir totalement l'absence d'agents infectieux tels que ceux-ci ou d'autres. Par conséquent, ce matériel doit être manipulé conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux précautions universelles.[14-16]

ATTENTION : Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.



H412, H311, H302

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

Danger ! Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. Toxique par contact cutané. Nocif en cas d'ingestion. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. Éviter le rejet dans l'environnement. EN CAS D'INGESTION : Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. Éliminer les contenus et les contenants conformément à toutes les réglementations locales, régionales et nationales. **Contient :** azide de sodium ; Ajusteur Toxoplasmose IgM (µ-Capture), Contrôles Toxoplasmose IgM (µ-Capture)

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-VHC et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

Dans la mesure où aucune méthode de test ne peut offrir une assurance complète que les spécimens de laboratoire ne contiennent pas de HIV, de virus de l'hépatite B ou tout autre agent infectieux, ils doivent être manipulés comme il est recommandé, pout tout spécimen humain sanguin ou sérique potentiellement infectieux, dans le manuel "CDC-NIH, *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 1993".*

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 toute contamination et l’exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

Eau : utiliser de l'eau distillée ou désionisée.

Pour un échantillon donné, la concentration dosée par les coffrets de différents fabricants pourra varier en raison des différences de méthode et de spécificité. Les résultats transmis par le laboratoire au médecin devront comporter la mention suivante : « Les résultats suivants ont été obtenus avec le dosage IMMULITE 2000 Toxoplasmose IgM (µ-Capture). » Les résultats obtenus avec d’autres méthodes de dosage du marché ne doivent pas y être substitués.

Les ajusteur et contrôles fournis avec le coffret devront être parfaitement dissous après reconstitution. Une solution non homogène pourra entraîner une mauvaise reproductibilité des résultats.

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 Toxoplasmose IgM (µ-Capture) (L2TZ12)
Avec code-barres. 200 billes, revêtues d’un anticorps monoclonal murin anti IgM humaine. Stable à 2–8°C jusqu’à la date de péremption.
L2KTZ2 : 1 cartouche

Cartouche-Réactif Toxoplasmose IgM (µ-Capture) (L2TZA2)
Avec code-barres. Deux Réactifs : 11,5 ml d’un tampon à base de protéine. 11,5 ml d’antigène natif P-30 de *Toxoplasma* conjugué à de la phosphatase alkaline (intestins de veaux), dans un tampon. Stable à 2–8°C jusqu’à la date de péremption.
L2KTZ2 : 1 cartouche

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.

Ajusteur Toxoplasmose IgM (µ-Capture) (LTZR)
Sérum humain tamponné, lyophilisé, contenant des IgM spécifiques de *Toxoplasma gondii*, avec conservateur. L’ajusteur fait office de point limite pour le test. Reconstituer chaque flacon avec **4,0 ml** d’eau distillée ou désionisée. Mélanger en imprimant un léger mouvement circulaire ou en retournant délicatement jusqu’à complète dissolution de la substance lyophilisée. (Aucune dilution supplémentaire n’est requise.) Stable à 2–8°C pendant 14 jours après reconstitution, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KTZ2 : 1 flacon

Contrôles Toxoplasmose IgM (µ-Capture) (LTZC1, LTZC2)
LTZC1 (Contrôle négatif) : Un flacon contenant du sérum humain lyophilisé non réactif à *Toxoplasma*, avec conservateur.
LTZC2 (Contrôle positif) : un flacon contenant du sérum humain lyphilisé avec de IgM réactives à *Toxoplasma*, avec conservateur. Reconstituer chaque flacon avec **2,0 ml** d’eau distillée ou désionisée. Mélanger en imprimant un léger mouvement circulaire ou en retournant délicatement jusqu’à complète dissolution de la substance lyophilisée. Stable à 2–8°C pendant 14 jours après reconstitution, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KTZ2 : 1 jeu

Le logiciel de l’ IMMULITE 2000 réalise automatiquement les dilutions à bord des échantillons de contrôles, les résultats sont alors importés dans la base de données QC. Entrer les contrôles (comme des contrôles).

Pour connaître la valeur du ratio contrôle actuelle, veuillez vous reporter à la notice d’emploi du contrôle.

Pour les ajusteurs et les contrôles, des étiquettes avec code-barres pour aliquot sont fournies avec le coffret. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée pour les aliquots sur les tubes, de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur à bord de l'IMMULITE 2000.

Diluant échantillon IgG/IgM (L2IGZ2)
Pour la dilution automatisée à bord des échantillons de patients et des contrôles. 55 ml concentré prêt à l'emploi, matrice tampon/protéines non-humaines avec conservateur. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après ouverture ou à –20°C pendant 6 mois.
L2KTZ2 : 1 flacon

Les étiquettes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 × 100 mm de façon que le code-barres puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2KTZ2 : 3 étiquettes

Composants du coffret fournis séparément

Diluant échantillon IgG/IgM (L2IGZ2)
Pour la dilution automatisée à bord des échantillons de patients et des contrôles. 55 ml concentré prêt à l'emploi, matrice tampon/protéines non-humaines avec conservateur. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après ouverture ou à –20°C pendant 6 mois.
L2IGZ2 : 1 flacon

Les étiquettes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 × 100 mm de façon que le code-barres puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2IGZ2 : 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 pour diluants (16 × 100 mm)
L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

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 de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000.

Voir le Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000 pour la préparation, le démarrage du système, la dilution, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé :
2 semaines

Echantillons pour le contrôle de qualité :
Les contrôles Toxoplasmose IgM (µ-Capture) (LTZC1-2) fournis avec le coffret doivent être utilisés comme matériel de contrôle de qualité pour surveiller les performances du test autour du seuil. Le contrôle positif est utilisé pour valider le test IMMULITE 2000 Toxoplasmose IgM (µ-Capture) dans une zone critique lors de le détection de la présence d'une infection toxoplasmique active.

En plus des contrôles fournis, l'utilisateur peut souhaiter effectuer des contrôles supplémentaires propres à ses objectifs.

Des contrôles supplémentaires pourront être testés, conformément aux recommandations ou directives des autorités locales ou nationales ou des organismes d'accréditation.

Il est également recommandé de tester périodiquement des échantillons réactifs ou non-réactifs avérés, pour contrôler l'exactitude du pipetage lors de l'étape de dilution.

Les contrôles doivent être effectués avant ou au début de chaque série d'échantillons à doser en *Toxoplasmose* IgM et lors des réajustements.

Il est conseillé aux utilisateurs du système IMMULITE 2000 de se reporter au document C24-A de la NCCLS, Internal Quality Control Testing: Principles and Definitions, pour des directives complémentaires sur le contrôle de qualité, les principes et définitions de base en accord avec les tests de contrôle de qualité interne.

Calcul du seuil et du ratio S/CO : Le seuil du dosage est déterminé avec des échantillons représentatifs afin d'obtenir la sensibilité et la spécificité optimales pour le dosage.

Le seuil est défini comme le nombre moyen de coups par seconde (cps) de l'ajusteur (provenant de l'ajustement le plus récent) multiplié par le Paramètre n° 1. (Voir les champs « Ajusteur bas » et « Paramètre 1 » de l'écran « Coffret ».)

Le calcul du rapport Signal/Seuil utilise l'équation suivante :

$$\text{Rapport (S/CO)} = \frac{\text{cps Echantillon ou Contrôle}}{\text{cps moyen Ajusteur} \times \text{P1}}$$

Les résultats (réactif / non-réactif / indéterminé) sont automatiquement calculés par l'IMMULITE 2000.

Le résultat d'un échantillon est « indéterminé » si le nombre de coups par seconde pour cet échantillon se situe à ±10 % du seuil. Le résultat est « réactif » si le nombre de coups par seconde pour cet échantillon est supérieur à l'intervalle "indéterminé" et "non-réactif" s'il est inférieur à cet intervalle.

Interprétation des résultats

Le seuil du dosage IMMULITE 2000 Toxoplasmose IgM (µ-Capture) a été déterminé avec des échantillons de patients négatifs et positifs par une analyse ROC et une prise en considération de l'équilibre entre spécificité et sensibilité.

Un résultat « **réactif** » (rapport seuil/signal ≥ 1,1) indique que l'échantillon est réactif et que des IgM anti-Toxoplasmose ont été détectées

Un résultat « **non-réactif** » (rapport seuil/signal < 0,9) indique que l'échantillon est non-réactif et que des IgM anti-Toxoplasmose n'ont pas été détectées.

Tout échantillon « **indéterminé** » (rapport seuil/signal entre 0,9 et < 1,1) devra faire l'objet d'un nouveau test. Les échantillons qui demeureraient « indéterminés » devront être testés par une autre méthode, ou un autre prélèvement devra être effectué – si possible – dans un délai raisonnable (une semaine, par exemple).

La présence d'IgM anti-*Toxoplasmose* témoigne d'une exposition antérieure au virus.[11]

L'amplitude de la réponse mesurée (en cps) au delà du seuil discriminant n'est pas en corrélation avec la quantité d'anticorps détectée.

Une interprétation des résultats est déconseillée si les contrôles, positif ou négatif, sortent des valeurs attendues dans le paragraphe Contrôle de Qualité.

Sur le rapport du laboratoire au médecin, doit figurer la mention « Le résultat ci-joint a été obtenu avec le test IMMULITE 2000 Toxoplasmose IgM (µ-Capture). » Les valeurs obtenues avec d'autres méthodes de dosage ne peuvent être différentes.

Le diagnostic d'une infection aiguë ne doit pas s'appuyer sur le résultat d'un unique test. En cas de suspiçion d'infection aiguë, sur l'échantillon du patient doivent être recherchés des IgG spécifiques de la *Toxoplasmose* mais aussi des IgM spécifiques. Les résultats doivent être interprétés selon les indications fournies dans les tableaux suivants et si possible un autre prélèvement doit être obtenu.

Résultat d'anti-*Toxoplasma gondii*		
IgM	**IgG**	**Interprétation**
Non-réactif	Non-réactif	Le patient ne parait pas infecté et n'est pas en train de faire une infection aiguë par *Toxoplasma gondii*. Si les symptomes persistent, effectuer un nouveau dosage dans les 3 semaines.
Non-réactif	Réactif	Par ce test, il est impossible de déterminer si le patient est ou n'est pas en train de réactiver une infection par *Toxoplasma gondii*. Il apparaît que le patient a déjà été auparavant infecté par *Toxoplasma gondii*. L'infection date d'il y a plus d'un an.
Non-réactif	Indéterminé	Prélever un nouvel échantillon et faire des tests complémentaires. Le patient n'est pas en train de faire une infection aiguë par *Toxoplasma gondii*. Il n'est pas possible de dire si le patient a été anterieurement infecté par *Toxoplasma gondii*.

Résultat d'anti-*Toxoplasma gondii*		Interprétation
IgM	**IgG**	
Indéterminé	Non-réactif	Prélever un nouvel échantillon et rechercher à nouveau les anticorps IgM contre *Toxoplasma gondii.*On ne peut pas dire si le patient est en train de faire une infection aigue à *Toxoplasma gondii*. Le patient ne paraît pas avoir eu d'infection antérieure par *Toxoplasma gondii* Si le nouveau prélèvement est réactif ou indéterminé en IgM, l'échantillon doit être envoyé dans un laboratoire de référence en Toxoplasmose pour des analyses complémentaires.
Indéterminé	Réactif	Prélever un nouvel échantillon pour la recherche des anticorps IgM anti *Toxoplasma gondii*. On ne peut dire si le patient est en train de faire ou a eu une infection aiguë à *Toxoplasma gondii*. Il se peut que le patient ait été antérieurement infecté par *Toxoplasma gondii*. Si le nouvel échantillon est indéterminé ou réactif en IgM, il doit être adressé à un laboratoire de référence en Toxoplasmose pour des analyses complémentaires.
Indéterminé	Indéterminé	Prélever un nouvel échantillon pour effectuer des tests complémentaires. On ne peut dire si le patient est en train de faire une infection aigue ou a été infecté anterieurement par *Toxoplasma gondii*. Si le nouvel échantillon est indéterminé ou réactif en IgM, il doit être adressé à un laboratoire de référence en Toxoplasmose pour des analyses complémentaires.
Réactif	Non-réactif	Prélever un nouvel échantillon pour effectuer des tests complémentaires.Le patient peut ou non être atteint d'une infection aigue par *Toxoplasma gondii*. Les anticorps IgG anti *Toxoplasma gondii* étant non-réactifs, l'échantillon peut avoir été prélevé trop précocément dans l'évolution de la maladie pour affirmer précisément le diagnostic. Tester ce nouvel échantillon avec une méthode différente pour la recherche des anticorps IgM anti *Toxoplasma gondii*. Si le nouvel échantillon est encore réactif en IgM, il doit être envoyé dans un laboratoire de référence de la Toxoplasmose pour des analyses complémentaires.
Réactif	Réactif	Le patient peut ou pas être atteint d'infection aigue par *Toxoplasma gondii*. Prélever un nouvel échantillon pour des tests complémentaires. Les anticorps IgM anti *Toxoplasma gondii* étant réactifs, le patient peut être en phase d'infection aigue par *Toxoplasma gondii*. Un nouvel échantillon doit être testé par une méthode différente pour la recherche des IgM contre *Toxoplasma gondii*. Si ce nouvel échantillon est encore réactif en IgM et IgG, il doit être envoyé dans un laboratoire de référence de la Toxoplasmose pour des analyses complémentaires.
Réactif	Indéterminé	On ne peut affirmer que le patient a une infection aigue par *Toxoplasma gondii*. Prélever un nouvel échantillon pour effectuer des tests complémentaires. Dire si le patient a été infecté antérieurement par *Toxoplasma gondii* n'est pas possible. L'échantillon peut avoir été prélevé trop précocément au cours de l'évolution de l'infection pour affirmer avec précision le diagnostic. Tester le nouvel échantillon avec une méthode différente de recherche des IgM anti *Toxoplasma gondii*. Si ce nouvel échantillon est encore réactif en IgM et quelque soit le résultat en IgG réactifs /non-réactifs /indéterminées, l'échantillon doit être adressé à un laboratoire de référence de la Toxoplasmose pour des analyses complémentaires.

Valeurs de référence

En cas d'infection par le *Toxoplasme*, les concentrations d'anticorps IgM spécifiques sont habituellement détectables juste avant ou peu après la survenue des symptômes.[2] Les taux d'IgM diminuent normalement en quatre à six mois, mais les IgM peuvent persister à de faibles concentrations jusqu'à une année.[4] Les patients atteints de choriorétinite active toxoplasmique ont habituellement des taux d'IgM indétectables.[4]

La prévalence de l'infection toxoplasmique varie en fonction de différents facteurs : âge, sexe, environnement géographique, statut socio-économique, race, type de test utilisé, procédure de prélèvement et de traitement de l'échantillon, ainsi que le contexte clinique, épidémiologique et

individuel du patient. Environ 3000 cas de Toxoplasmose congénitale sont rapportés chaque année, avec une moyenne de 0,6 cas pour cent grossesses aux Etats-Unis.[13]

Limites

Les résultats doivent impérativement être interprétés en tenant compte du contexte clinique, de la symptomatologie et des données complémentaires du laboratoire. Les résultats du test IMMULITE 2000 Toxoplasmose IgM (µ-Capture) ne permettent pas seuls de porter un diagnostic et doivent impérativement être interprétés selon le contexte clinique, et les autres données de laboratoire.

Pour mettre en évidence une séroconversion, un second échantillon sérique devra être prélevé trois ou quatre semaines après le prélèvement négatif de la phase aiguë, au cours de la phase de convalescence de l'infection. L'échantillon de phase aiguë doit être conservé et testé en parallèle avec l'échantillon de la phase de convalescence.

Les résultats obtenus pour des patients VIH$^+$, des patients suivant un traitement immunosuppresseur ou des patients ayant d'autres troubles conduisant à une immunosuppression, devront être interprétés avec prudence. Un résultat négatif de *Toxoplasmose* IgM n'exclut pas la possibilité d'une infection aiguë chez des patients immunodéprimés. Les IgG spécifiques de *Toxoplasma gondii* sont habituellement basses, et les anticorps IgM spécifiques de *Toxoplasma gondii* peuvent être indétectables chez ces patients immunodéprimés.

Les performances de ce dosage n'ont pas été évaluées pour l'utilisation d'échantillons provenant de sang de cordon, de nouveau-nés, de patients allant recevoir une transplantation.

Des anticorps anti-IgG humains ont été ajoutés aux réactifs pour éliminer les IgG spécifiques et les facteurs rhumatoïdes susceptibles de produire des faux réactifs.

Les performances du test IMMULITE 2000 Toxoplasmose IgM (µ-Capture) n'ont été établies que pour du sérum et du plasma humain et pour aucune autre matrice échantillon.

La présence d'anticorps IgM dans un échantillon unique n'est pas suffisante pour distinguer une infection active d'une infection passée. Les patients suspectés d'être atteints d'une infection primaire ou active doivent avoir une recherche d'anticorps IgG anti *Toxoplasma gondii.*

Si le traitement est prescrit suffisamment tôt, la production d'anticorps diminue, les taux d'IgG et d'IgM demeurent bas et peuvent persister des années.

La présence continue ou l'absence d'anticorps ne peuvent être considérées comme un facteur déterminant le succès ou l'échec du traitement.

Des résultats de tests réactifs peuvent ne pas être significatifs chez des personnes ayant reçu une transfusion sanguine ou tout autre produit sanguin dans les mois précédents.

Ce test ne doit pas être utilisé pour un dépistage de la population générale. La valeur prédictive d'un test sérologique positif ou négatif dépend de la probabilité de présence de l'infection. Le dosage doit être fait quand la clinique évoque un diagnostic de toxoplasmose.

Ce test n'est pas une aide pour déterminer le statut immunitaire. Il est destiné à détecter une réponse anticorps du patient afin de révéler une infection active à *Toxoplasma gondii* et non à déterminer un statut immunitaire.

Des taux bas d'anticorps IgM peuvent parfois persister plus de 12 mois après l'infection. Une telle réponse résiduelle d'anticorps doit être distinguée de la réponse précoce en IgM lors d'une infection active en dosant de nouveau le sérum du patient 2 à 4 semaines plus tard avec le test IMMULITE 2000 Toxoplasmose IgM (µ-Capture) et en recherchant une ascension du taux des IgG anti Toxoplasmose.

Des anticorps IgM spécifiques sont généralement détectés chez des pateints atteints par une infection primaire récente mais peuvent aussi être détectés chez des patients ayant une réactivation ou une infection secondaire. Ils sont aussi parfois trouvés chez des patients n'ayant aucune autre preuve détectable d'infection récente.

Les échantillons prélevés trop tôt dans l'évolution d'une infection primaire à *Toxoplasma gondii* peuvent ne pas contenir de taux détectable d'anticorps IgM spécifiques. Chez certains patients, les résultats d'anticorps IgM spécifiques peuvent revenir à un taux non-réactif dans les 3 semaines suivant l'infection à *Toxoplasma gondii.* La recherche d'anticorps IgG spécifiques à *Toxoplasma gondii* peut également être un élément dans l'évaluation sérologique de ces patients.

En raison de la très faible prévalence en IgM anti-*Toxoplasma gondii,* il existe une possibilité accrue qu'un résultat réactif soit en fait un faussement réactif, réduisant ainsi la valeur prédictive positive du dosage.

Etant donnée la haute sensibilité de ce dosage, les échantillons d'une toxoplasmose subaiguë peuvent être détectables. Une étude plus approfondie de ces résultats est nécessaire s'appuyant sur l'examen clinique, l'histoire médicale du patient et sur des résultats complémentaires.

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 de ce test. Les résultats sont exprimés sous forme d'un ratio signal/ seuil discriminant valant.

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 résultats au total. (Voir le tableau « Precision ».)

Réaction-croisée : Une étude a été conduite pour évaluer le risque que le dosage d'IgM anti-*Toxoplasmose* soit affecté par des micro-organismes. 87 sérums séronégatifs contenant des anticorps de virus de la varicelle (n=3), rougeole (n=10), cytomegalovirus (CMV) (n=10), herpès simplex (n=10), *Toxoplasmose* (n=10), *Mycoplasma pneumoniae* (n=10), Epstein Barr virus (n=10), syphillis (n=10), parvovirus (n=8) et facteur rhumatoïde (n=6) ont été testés avec le dosage IMMULITE 2000 Toxoplasmose IgM (µ-Capture), et tous ont donné un résultat non réactif.

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.

Biotine : Les échantillons contenant de la biotine à une concentration de 1500 ng/ml présentent un changement de résultats inférieur ou égal à 10 %. Des concentrations de biotine supérieures à cette valeur peuvent entraîner des résultats d'échantillons patients erronés.

Hémolyse : La présence d'hémoglobine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 539 mg/dl.

Lipémie : La présence de triglycerides peut avoir un effet sur les résultats si la concentration dépasse 3000 mg/dl. (Voir le tableau « Lipemia ».)

Autres types d'échantillons : Pour estimer l'effet produit par une alternance du type d'échantillon, le sang de 34 volontaires a été prélevé sur tubes vacutainers secs, EDTA, héparinés et sur tubes en plastique SST Becton Dickinson. 11 échantillons ont été surchargés avec du sérum contenant des anticorps IgM de *Toxoplasma* et ont été dosés avec le kit Toxoplasmose IgM (µ-Capture) sur

l'IMMULITE 2000. Les résultats sont exprimés en ratio signal/seuil. Les régressions linéaires ont donné:

(EDTA, plastique) = 1,02 (Sérum, plastique) + 0,009
r = 0,998

(Héparine, plastique) = 1,00 (Sérum, plastique) – 0,002
r = 0,996

(SST, plastique) = 1,03 (Sérum, plastique) – 0,006
r = 0,994

Moyennes :
0,53 (Sérum, plastique)
0,55 (EDTA, plastique)
0,54 (Héparine, plastique)
0,54 (SST, plastique)

Lors d'une autre expérience, du sang de 40 volontaires a été prélevé sur tubes vacutainers sériques en verre et en plastique Becton Dickinson. Tous ont été dosés ave le test IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Capture). Les résultats sont exprimés en ratio signal/seuil. Les régressions linéaires ont donné:

(Sérum, plastique) = 1,00 (Sérum, verre) + 0,010
r = 0,808

Moyennes :
0,11 (Sérum, plastique)
0,10 (Sérum, verre)

Comparaison de méthodes: Le test a été comparé à un autre dosage µ-capture de Toxoplamsose IgM (kit A) disponible sur le marché sur 195 échantillons:

	IMMULITE 2000 Toxoplasmose IgM (µ-Capture) (L2KTZ)		
Kit A	Pos	Ind	Neg
Réactif	18	1	0
Indeterminé	1	0	1
Non-réactif	4	0	170

Concordance totale : 96,4% (188/195)
Sensibilité relative : 94,7% (18/19)
Spécificité relative : 97,7% (170/174)
Valeur prédicitve Positive : 78,3% (18/23)
Valeur prédicitve Négative : 99,4% (170/171)

Performance clinique

Lors d'une étude clinique réalisée en Europe, des spécimens provenant de 452 patients définis comme négatifs à la Toxoplamose IgM et 40 patients définis comme étént en phase aigue d'infection à Toxoplamose ont été évalués avec la IMMULITE 2000 Toxoplasmose IgM (µ-Capture). Les spécimens ont été analysés et les indications positives et négatives d'IgM anti-toxoplasme ont été définies par des méthodes diagnostiques bien établies, des résultats cliniques et des modèles sérologiques. Des 452 échantillons de patients définis comme négatifs à la *Toxoplamose* IgM, 396 étaient positifs à la *Toxoplasmose* IgG, reflétant une infection latente ou passée. Parmi ces 396 patients à infection latente, 293 avaient été prélevés sur des femmes enceintes à tous stades de la grossesse. Le tableau ci-dessous présente les résultats de cette étude.

Comparaison de tous les sujets:

	Échantillons definis cliniquement		
IMMULITE 2000 Toxoplasmose IgM µ-Capture (L2KTZ)	Pos	Indet	Neg
Réactif	40	0	20
Indéterminé	0	0	6
Non-réactif	0	0	426

Avec cas indéterminés :
Concordance : 95,9% (472/492); Sensibilité: 100% (40/40); Spécificité : 95,6% (432/452)

Sans cas indéterminés:
Concordance : 95,9% (466/486); Sensibilité: 100% (40/40); Spécificité : 95,5% (426/446)

Comparaison des femmes enceintes:

	Échantillons definis cliniquement		
IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM µ-Capture (L2KTZ)	Pos	Indet	Neg
Reactive	0	0	14
Indeterminate	0	0	5
Nonreactive	0	0	274

Avec cas indéterminés :
Spécificité : 95,2% (279/293)

Sans cas indéterminés :
Spécificité : 95,1% (274/288)

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

Le Système Qualité de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. est certifié ISO 13485.

Italiano

IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Cattura)

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE 2000 — per la determinazione qualitativa presuntiva degli anticorpi IgM anti-*Toxoplasma gondii* nel siero umano o nel plasma (EDTA o Eparinizzato), in modo particolare nelle donne in età fertile. Se effettuato con il dosaggio del Toxoplasma IgG, il dosaggio IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Cattura) può essere utilizzato quale ausilio nella diagnosi presuntiva di infezione acuta, recente o reattiva da *Toxoplasma gondii*.

Codice: **L2KTZ2** (200 test)

Codice del Test: **TXU** Colore: **violetto**

Il kit non è stato approvato dall'FDA per lo screening dei donatori di sangue o di plasma.

Riassunto e Spiegazione del Test

Il Toxoplasma gondii è un parassita intracellulare obbligato in grado di infettare la maggior parte dei mammiferi, inclusi gli esseri umani. L'organismo viene trasmesso attraverso ingestione di carne mal cotta. In tutto il mondo, dall'1 al 90% della popolazione può essere infettata;[7] negli Stati Uniti tra il 25 ed il 30% della popolazione adulta risulta infettata.[3] Mentre la Toxoplasmosi si può manifestare in diverse forme, generalmente le infezioni non sono clinicamente evidenti, e le infezioni latenti possono persistere per tutta la vita.[2] I sintomi clinici conclamati sono simili alla mononucleosi infettiva, con linfoadenopatia, febbre, mal di testa, affaticamento ed a volte polmonite e miocardite.[6]

Come nel caso di altre infezioni latenti, l'infezione da Toxoplasma acuta può rappresentare una minaccia grave per individui immunodepressi e per i neonati che contraggono l'infezione *in utero*. I pazienti immunodeppressi possono sviluppare encefalite, miocardite o polmonite.[3] Le infezioni congenite generalmente insorgono come consequenza dell'infezione materna asintomatica acuta. Questa infezione può dar luogo a nascita prematura, aborto spontaneo, o parto di feto morto.[4,6] I neonati possono manifestare corioretinite, idrocefalia, microcefalia, calcificazione cerebrale e ritardo psicomotorio.[1] La maggior parte dei bambini che hanno contratto l'infezione in utero non mostreranno sintomi sino all'età adulta.[4]

La gestione della toxoplasmosi richiede il controllo sierologico degli individui infettati,[3] poiché l'organismo non può essere isolato in coltura diretta. I test quantitativi per la presenza degli anticorpi IgM anti-Toxoplasma possono essere utili per determinare un'infezione precedente ed indicare la riattivazione dell'infezione. E' importante avere informazioni diagnostiche accurate, particolarmente durante la gravidanza, poiché il trattamento con spiramicina può ridurre i rischi per il feto.[5]

Principio del Dosaggio

Il dosaggio IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Cattura) è un immunodosaggio in fase solida, a due step, in chemiluminescenza basato sulla cattura-µ degli anticorpi IgM. La fase solida, una sferetta di polistirene, è coattata con un anticorpo monoclonale murino anti-IgM.

Il campione del paziente e la sferetta coattata vengono aggiunti alla Provetta di Reazione. Viene anche aggiunto un antigene Toxoplasma marcato con fosfatasi alcalina. Dopo il lavaggio e l'incubazione, il substrato chemiluminescente subisce idrolisi in presenza della fosfatasi alcalina. Il Dosaggio IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Cattura) è un dosaggio immunometrico. L'emissione di fotoni, misurata dal luminometro, è relativa alla presenza di anticorpi IgM anti-*Toxoplasma* nel campione.

Cicli d'incubazione: 2 × 30 minuti

Raccolta dei campioni

Non è necessario che il paziente sia a digiuno, non sono necessarie preparazioni particolari.

Prelevare il sangue asetticamente attraverso prelievo[12], evitando l'emolisi, in provette semplici, eparinizzate o EDTA e separare il siero o il plasma dalle cellule.

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

I campioni emolizzati possono indicare un trattamento non idoneo del campione prima dell'arrivo al laboratorio; per questo motivo, i risultati devono essere interpretati con prudenza.

I campioni torbidi o che presentano materiali particolati devono essere schiariti utilizzando una centrifuga a bassa velocità.

La centrifugazione dei campioni di siero prima che la coagulazione sia completa può produrre fibrina. Per evitare risultati errati dovuti alla presenza di fibrina, assicurarsi che il processo di coagulazione sia completo prima di centrifugare i campioni. Alcuni campioni, in modo particolare quelli di pazienti sottoposti a terapia con anticoagulanti, possono richiedere tempi di coagulazione più lunghi.

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. Il dosaggio IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Cattura) non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante i Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume richiesto: 10 µL di siero o plasma

Conservazione: 3 giorni a 2–8°C o per 6 mesi a –20°C.[10]

Fattore Automatico di Pre-Diluizione: 20

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.



ATTENZIONE! POTENZIALE PERICOLO BIOLOGICO
Contiene materiale di origine umana. Ciascuna donazione di sangue o componenti ematici umani è stata testata con metodi approvati dalla FDA per rilevare la presenza di anticorpi al virus dell'immunodeficienza umana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2), nonché per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e gli anticorpi al virus dell'epatite C (HCV). I risultati del test sono stati negativi (non ripetutamente reattivi). Nessun test offre assicurazione completa che questi o altri agenti infettivi siano assenti; questo materiale va trattato utilizzando le corrette prassi di laboratorio e le precauzioni universali.[14-16]

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale portatore e trasmettitore di agenti patogeni.



H412, H311, H302

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

Pericolo! Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. Tossico per contatto con la pelle. Nocivo se ingerito. Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. Non disperdere nell'ambiente. IN CASO DI INGESTIONE: In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. Smaltire il prodotto e il contenitore in conformità con tutte le disposizioni locali, regionali e nazionali.
Contiene: sodio azide; Calibratore Toxoplasma IgM (µ-Cattura), Controlli Toxoplasma IgM (µ-Cattura)

Reagenti: Conservare a 2–8°C. Eliminare secondo le normative di legge vigenti.

Seguire le precauzioni universali, e manipolare tutti i componenti come se potessero trasmettere agenti infettivi. Sono stati analizzati 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.

Poiché nessun metodo può offrire la completa sicurezza che i campioni non contengano HIV, virus dell'Epatite B, o altri agenti infettivi, i campioni devono essere manipolati al Livello di Biosicurezza 2 cosiccome consigliato per qualsiasi campione di siero o di sangue umano potenzialmente infettivo nel manuale CDC-NIH, *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 1993*.

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.

I risultati ottenuti per un dato campione con dosaggi di diversi produttori possono variare a causa delle differenze nei metodi utilizzati e nella specificità del reagente. Quindi, i risultati riportati dal laboratorio al medico devono includere quanto segue: "I seguenti risultati sono stati ottenuti con il dosaggio IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Cattura) EIA. I valori ottenuti con metodi utilizzati da produttori diversi non possono essere interscambiati".

Il calibratore ed il controllo(i) forniti con il kit devono essere dissolti completamente dopo la ricostituzione. La mancata omogeneità della soluzione può causare cattiva riproducibilità dei risultati.

Materiali forniti

I componenti costituiscono un unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

Contenitore di Sferette Toxoplasma IgM (µ-Cattura) (L2TZ12)
Con codice a barre. 200 sferette, coattate con un anticorpo monoclonale murino anti-IgM umane. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KTZ2: 1 confezione

Porta Reagente Toxoplasma IgM (µ-Cattura) (L2TZA2)
Con codice a barre. Due Reagenti:
11.5 mL di un tampone a base proteica.
11.5 mL di fosfatasi alcalina (intestino bovino) coniugata con antigene Toxoplasma P-30 nativo, in un tampone.
Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KTZ2: 1 confezione

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.

Calibratore Toxoplasma IgM (µ-Cattura) (LTZR)
Siero umano liofilo con IgM reattive anti-*Toxoplasma*, in un tampone, con conservanti. Il calibratore serve da cutoff del dosaggio. Ricostituire ogni flacone con **4,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Mescolare agitando delicatamente o invertendo la miscela finchè il materiale liofilo sia completamente dissolto. (Non è necessaria ulteriore diluizione.) Stabile a 2–8°C per 14 giorni dopo la ricostituzione, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KTZ2: 1 flacone

Controlli Toxoplasma IgM (µ-Cattura) (LTZC1, LTZC2)
LTZC1 (Controllo Negativo): Un flacone contenente siero umano liofilo non reattivo *al Toxoplasma*, con conservanti. **LTZC2 (Controllo Positivo):** Un flacone contenente siero umano liofilo con IgM reattive anti-*Toxoplasma* con conservanti. Ricostituire ogni flacone con **2,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Mescolare agitando delicatamente o invertendo la miscela finchè il materiale liofilo sia completamente dissolto. Stabile a 2–8°C per 14 giorni dopo la ricostituzione, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KTZ2: 1 set

Il software IMMULITE 2000 effettua diluizioni automatiche interne dei campioni e dei controlli, e i risultati vengono inseriti nel database CQ. Inserire i controlli come controlli.

Per i range del controllo, fare riferimento alla metodica del controllo.

Le etichette delle aliquote provviste di codice a barre sono fornite con il kit, da utilizzarsi con i Calibratori ed i Controlli. Prima dell'utilizzo, collocare le etichette sulle provette delle aliquote appropriate in modo che i codici a barre possano essere letti dal lettore dell'IMMULITE 2000.

Diluente IgG/IgM (L2IGZ2)
Per la diluizione interna dei campioni e dei controlli. 55 mL concentrato pronto all'uso, una matrice/tampone proteica non umana con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura o a –20°C per 6 mesi (aliquotato).
L2KTZ2: 1 flaconi

Vengono fornite le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm cosicchè i codici a barre possano essere letti dal lettore interno.
L2KTZ2: 3 etichette

Componenti del kit forniti separatamente

Diluente IgG/IgM (L2IGZ2)
Per la diluizione interna dei campioni e dei controlli. 55 mL concentrato pronto all'uso, una matrice/tampone proteica non umana con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura o a –20°C per 6 mesi (aliquotato).
L2IGZ2: 1 flaconi

Vengono fornite le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm cosicchè i codici a barre possano essere letti dal lettore interno.
L2IGZ2: 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 × 100 mm) per Diluente del Campione
L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluente del Campione

Materiali richiesti
Acqua distillata o deionizzata; Provette.

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi 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: I Controlli Toxoplasma IgM (µ-Cattura) (LTZC1-2) forniti con il kit devono essere usati come materiale per il controllo di qualità per monitorare le prestazioni del dosaggio al range di cutoff. Il Controllo Positivo viene usato per validare il dosaggio IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Cattura) ad un livello critico nella determinazione della presenza di un'infezione da toxoplasma attiva.

Oltre ai controlli forniti, gli operatori possono utilizzare controlli aggiuntivi.

Possono essere testati altri controlli secondo quanto previsto dalle linee guida o dalle regolamentazioni locali, statali e/o federali o dagli organismi di accreditamento.

Si consiglia, di tanto in tanto, di testare i campioni reattivi e non reattivi per assicurare l'accuratezza della dispensazione nella fase di diluizione.

I controlli devono essere processati all'inizio (o in prossimità) dell'inizio di ogni seduta in presenza di campioni da testare per la presenza del *Toxoplasma* IgM, ed anche nel caso di una ricalibrazione.

Gli utilizzatori del sistema IMMULITE 2000 sono invitati a consultare il documento NCCLS C24-4; Internal Quality Control Testing: Principles and Definitions, per ulteriori linee guida sul controllo di qualità per i principi e le definizioni di base nella gestione del controllo di qualità interna.

Calcolo del Cutoff e Rapporto S/CO: Il Cutoff del dosaggio è stato determinato da campioni rappresentativi per raggiungere una sensibilità ed una specificità ottimali per il dosaggio.

Il cutoff viene stabilito uguale alle conte medie per secondo (cps medio) del calibratore (dalla calibrazione più recente), moltiplicato per il Parametro 1 della Curva (Vedi i campi “CPS del calibratore basso” e “Parametro 1 della Curva” sullo schermo dell’IMMULITE 2000 accessibile dal menu attraverso Data Entry: Kit Entry [Immissione dati: immissione kit]).

Il calcolo del rapporto segnale/cutoff (s/co) è effettuato utilizzando la seguente formula:

$$\text{Rapporto S/CO} = \frac{\text{cps Campione o Controllo}}{\text{cps Calibratore Medio} \times \text{P1}}$$

Il calcolo ed il report dei risultati qualitativi (reattivo / non reattivo / indeterminato) e del rapporto co/s vengono gestiti automaticamente dall’IMMULITE 2000.

Il risultato per un campione è “indeterminato” se i cps del campione rientrano entro ±10% del valore di cutoff. Il risultato è “reattivo” se i cps del campione sono superiori al range indeterminato, e “non reattivo” se sono inferiori al range.

Interpretazione dei risultati

Il cutofff del dosaggio IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Cattura) è stato determinato con campioni reattivi e non reattivi attraverso un’analisi ROC con una considerazione bilanciata della sensibilità e della specificità.

Un risultato **“Reattivo”** (rapporto ≥ 1.1) indica che il campione è reattivo e che gli anticorpi anti-Toxoplasma IgM sono presenti nel campione.

Un risultato **“Nonreattivo”** (rapporto < 0.9) indica che il campione del paziente non è reattivo e che gli anticorpi IgM anti-Toxoplasma non sono stati rilevati nel campione.

Un risultato **“indeterminato”** (rapporto s/co tra 0,9 e < 1,1) deve essere ritestato. I campioni che producono nuovamente un risultato “indeterminato” devono essere ridosati con un metodo alternativo, o deve essere prelevato un secondo campione – se possibile – entro un periodo ragionevole (p.e. una settimana).

La presenza di anticorpi IgM anti-*Toxoplasma* è un'indicazione dell'esposizione recente al virus.[11]

La grandezza dei risultati misurati (cps) superiori al valore di cutoff non è indicativa della quantità totale di anticorpi rilevati.

Non si consiglia l’interpretazione dei risultati se il controllo positivo o negativo cade al di fuori del range specificato nella sezione del Controllo di Qualità.

I report inviati dal laboratorio al medico devono includere quanto segue: “I seguenti risultati sono stati ottenuti con il dosaggio IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Cattura) EIA. I valori ottenuti con dosaggi di altri produttori non possono essere interscambiati”.

La diagnosi di infezione acuta non deve essere affidata ad un unico risultato. Se si sospetta la presenza di un’infezione acuta, occorre testare il campione per la presenza sia degli anticorpi *Toxoplasma* IgG che IgM specifici. I risultati devono essere interpretati secondo le linee guida fornite nella seguente tabella e se possibile occorre prelevare un nuovo campione.

Risultato del Test Anti-*Toxoplasma gondii*		
IgM	**IgG**	**Report/Interpretazione**
Non reattivo	Non reattivo	Si presume che il paziente non abbia contratto l’infezione e non abbia un’infezione acuta da *Toxoplasma gondii.* Se i sintomi persistono analizzare un nuovo campione entro tre settimane.
Non reattivo	Reattivo	Da questo test non è possibile determinare se il paziente stia o non stia avendo un’infezione riattivata da *Toxoplasma gondii*. Sembra che il paziente sia stato precedentemente infettato dal virus e che l’infezione risalga a più di un anno prima.
Non reattivo	Indeterminato	E’ necessario ottenere un nuovo campione per ulteriori test. Il paziente potrebbe non avere un’infezione acuta da *Toxoplasma gondii.* Non è possibile determinare se il paziente sia stato precedentemente infettato dal virus.

Risultato del Test Anti-*Toxoplasma gondii*		Report/Interpretazione
IgM	**IgG**	
Indeterminato	Non reattivo	E' necessario ottenere un nuovo campione per la determinazione degli anticorpi IgM anti-*Toxoplasma gondii.* Non è possibile determinare se il paziente stia *avendo* un'infezione acuta da *Toxoplasma gondii*. Sembra che il paziente non sia stato precedentemente infettato dal *Toxoplasma.* Se il risultato del nuovo campione è reattivo o indeterminato per gli anticorpi IgM, il campione deve essere inviato ad un laboratorio di riferimento con esperienza nella diagnosi della Toxoplasmosi per ulteriori test.
Indeterminato	Reattivo	E' necessario ottenere un nuovo campione per la determinazione degli anticorpi IgM anti-*Toxoplasma gondii.* Non è possibile determinare se il paziente stia *avendo o abbia avuto* un'infezione acuta da *Toxoplasma*. Sembra che il paziente sia stato precedentemente infettato dal *Toxoplasma.* Se il risultato del nuovo campione è reattivo o indeterminato per gli anticorpi IgM, il campione deve essere inviato ad un laboratorio di riferimento con esperienza nella diagnosi della Toxoplasmosi per ulteriori test.
Indeterminato	Indeterminato	E' necessario ottenere un nuovo campione per ulteriori test. Non è possibile determinare se il paziente stia *avendo o abbia avuto* un'infezione acuta da *Toxoplasma.* Se il risultato del nuovo campione è reattivo o indeterminato per gli anticorpi IgM, il campione deve essere inviato ad un laboratorio di riferimento con esperienza nella diagnosi della Toxoplasmosi per ulteriori test.

Risultato del Test Anti-*Toxoplasma gondii*		Report/Interpretazione
IgM	**IgG**	
Reattivo	Non reattivo	E' necessario ottenere un nuovo campione per ulteriori test. Il paziente potrebbe o non potrebbe essere infettato in maniera acuta da *Toxoplasma gondii*. Poiché gli anticorpi IgG anti-*Toxoplasma gondii* sono non reattivo, il campione potrebbe essere stato prelevato troppo presto nel decorso della malattia per una determinazione accurata. Ritestare il nuovo campione con un dosaggio diverso per il *Toxoplasma gondii* IgM. Se il risultato del nuovo campione è ancora reattivo per gli anticorpi IgM, il campione deve essere inviato ad un laboratorio di riferimento con esperienza nella diagnosi della Toxoplasmosi per ulteriori test.
Reattivo	Reattivo	Il paziente potrebbe o non potrebbe essere stato infettato in maniera acuta da *Toxoplasma gondii.* E' necessario ottenere un nuovo campione per ulteriori test. Poiché gli anticorpi IgG anti-*Toxoplasma gondii* sono reattivo, sembra che il paziente possa essere stato infettato in maniera acuta dal *Toxoplasma gondii.* Ritestare il nuovo campione con un dosaggio diverso per il *Toxoplasma gondii* IgM. Se il risultato del nuovo campione è ancora reattivo per gli anticorpi IgM ed IgG, il campione deve essere inviato ad un laboratorio di riferimento con esperienza nella diagnosi della Toxoplasmosi per ulteriori test.
Reattivo	Indeterminato	Non è determinabile se il paziente sia stato precedentemente infettato dal *Toxoplasma gondii.* E' necessario ottenere un nuovo campione per ulteriori test. Il campione potrebbe essere stato prelevato troppo presto nel decorso della malattia per una determinazione accurata. Ritestare il nuovo campione con un dosaggio diverso per il *Toxoplasma gondii* IgM. Se il risultato del nuovo campione è ancora reattivo per gli anticorpi IgM ed gli anticorpi IgG sono reattivo / non reattivo / indeterminati, il campione deve essere inviato ad un laboratorio di riferimento con esperienza nella diagnosi della Toxoplasmosi per ulteriori test.

Valori Attesi

Solitamente, gli individui infettati dal *Toxoplasma* mostrano livelli rilevabili di anticorpi IgM immediatamente prima o dopo l'inizio dei sintomi.[2] Normalmente i titoli IgM diminuiscono entro quattro – sei mesi, ma possono persistere fino ad un anno.[4] Di solito, i pazienti con corioretinite attiva presentano normalmente livelli non rilevabili di IgM.[4]

La prevalenza dell'infezione da Toxoplasma può variare in dipendenza di un numero di fattori quali: l'età, il sesso, la collocazione geografica, lo stato socio-economico, la razza, il tipo di test utilizzati, il prelievo del campione e le procedure di manipolazione, e l'anamnesi clinica ed epidemiologica dei pazienti. Esistono circa 3000 casi di toxoplasmosi congenita all'anno con una media di 0,6 casi per 1 000 gravidanze negli Stati Uniti.[13]

Limiti

I risultati del dosaggio devono essere considerati nel contesto dell'anamnesi e della sintomatologia del paziente e di altre informazioni fornite dal laboratorio. I risultati del kit IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Cattura) non sono di per se stessi diagnostici e devono essere interpretati alla luce delle condizioni cliniche del paziente e dei risultati di altre procedure diagnostiche.

Per la determinazione della sieroconversione dal *non reattivo al reattivo*, è necessario prelevare due campioni di siero ad una distanza di tre o quattro settimane tra di loro, durante la fase acuta e la fase di convalescenza dell'infezione. Il campione della fase acuta deve essere conservato ed analizzato utilizzando una procedura in parallelo con il campione della fase di convalescenza.

I risultati nei pazienti HIV, in pazienti che subiscono una terapia immuno-soppressiva, o in pazienti con malattie che portano alla immunosoppressione devono essere interpretati con prudenza. Un risultato non reattivo per il *Toxoplasma* IgM non preclude la possibilità di un'infezione acuta in pazienti immuno-compromessi. Gli anticorpi *Toxoplasma gondii* IgG specifici sono generalmente bassi e gli anticorpi *Toxoplasma gondii* IgM specifici possono essere non rilevabili in pazienti immunocompromessi.

Le caratteristiche delle prestazioni di questo dosaggio non sono state ancora stabilite per campioni neonatali, per il sangue del cordone ombelicale, o per pazienti pretrapianto.

Anticorpi anti IgG umane sono stati aggiunti ai reagenti per rimuovere le IgG specifiche ed il fattore reumatoide che potrebbero causare risposte erroneamente reattive.

Le prestazioni del dosaggio IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Cattura) non sono state stabilite per matrici diverse dal siero o dal plasma umani.

La presenza di anticorpi IgM in un unico campione non è sufficiente a distinguere tra infezione attiva o pregressa. Pazienti con sospetta infezione primaria o attiva devono essere testati per la presenza di anticorpi IgG anti-*Toxoplasma gondii*.

Se la terapia viene prescritta abbastanza precocemente, la produzione di anticorpi diminuisce ed il livello di IgG ed IgM rimane basso e può coesistere per anni.

La presenza continua o l'assenza di anticorpi non può essere utilizzata per determinare il successo o il fallimento della terapia.

Risultati reattivi possono non essere validi in persone sottoposte a trasfusioni di sangue o di altri emoderivati nei mesi precedenti.

Il test non deve essere utilizzato come procedura di screening sulla popolazione generica. Il valore predittivo di un risultato sierologico reattivo o non reattivo dipende dalla probabilità pre-test che la toxoplasmosi sia presente. Il test dovrebbe essere effettuato quando l'evidenza clinica suggerisce una diagnosi di toxoplasmosi.

Il test non è stato concepito per la determinazione dello stato immunitario. E' stato concepito per la determinazione della risposta anticorpale del paziente ad indicare un'infezione attiva da *Toxoplasma gondii* e non quale indice di immunità.

Livelli bassi di anticorpi IgM possono occasionalmente persistere per più di 12 mesi post-infezione. Tale risposta anticorpale residua può essere distinta dalla risposta precoce delle IgM all'infezione attiva testando i sieri dei

pazienti da 2 a 4 settimane dopo utilizzando il kit IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Cattura) e attraverso il riferimento al cambiamento nei livelli di anticorpi *Toxoplasma* IgG.

Anticorpi IgM specifici sono normalmente rilevati in pazienti con un'infezione primaria recente, ma possono essere riscontrati in pazienti con infezioni riattivate o secondarie, e possono essere riscontrati a volte in pazienti con nessun altra evidenza rilevabile di infezione recente.

Campioni prelevati troppo in anticipo nel corso di un'infezione primaria da *Toxoplasma gondii* possono non contenere livelli rilevabili di anticorpi IgM specifici. In alcuni pazienti, i risultati degli anticorpi IgM specifici possono diventare non reattivi nell'arco di tre settimane dopo l'infezione da *Toxoplasma gondii*. La misurazione di anticorpi IgG specifici *anti-Toxoplasma gondii* possono essere di qualche rilievo nella determinazione dello stato sierologico di questi pazienti.

Con analiti a prevalenza molto bassa, quali gli anticorpi IgM anti-*Toxoplasma gondii*, esiste una possibilità maggiore che un risultato reattivo sia in realtà un falso reattivo, riducendo in tal modo il valore predittivo positivo del dosaggio.

A causa dell'alta sensibilità del dosaggio, si possono rilevare campioni con un'infezione subacuta da Toxoplasma. I risultati ottenuti da questi campioni devono essere ulteriormente indagati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad alter indagini di laboratorio.

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 immuno-assays. 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 *rappresentativi* delle prestazioni del dosaggio. I risultati sono espressi come rapporto segnale-cut-off.

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".)

Crossreattività: E' stato condotto uno studio per valutare se il dosaggio degli anticorpi anti-*Toxoplasma gondii* IgM è alterato da microorganismi ad esso strettamente correlati. Sono stati testati con il dosaggio IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Cattura) 87 sieri sieronegativi contenenti anticorpi anti Virus della Varicella Zoster (*n*=3), anti Rosolia (*n*=10), anti-Citomegalovirus (CMV) (*n*=10), anti-virus dell'herpes simplex (*n*=10), anti-*Toxoplasma* (*n*=10), anti-*Mycoplasma pneumoniae* (*n*=10), anti-Virus dell'Epstein-Barr (*n*=10), anti-Sifilide (*n*=10), anti-Parvovirus (*n*=8) anti- fattore reumatoide (*n*=6), e tutti hanno prodotto risultati non reattivi.

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.

Biotina: I campioni che contengono biotina a una concentrazione di 1500 ng/mL dimostrano una variazione nei risultati inferiore o pari al 10%. Le concentrazioni di biotina superiori a questo valore potrebbero portare a risultati non corretti dei campioni dei pazienti.

Emolisi: La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 539 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Lipemia: La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 3000 mg/dL può non aver nessun effetto sui risultati (vedi tabella "Lipemia").

Tipo di Campione Alternativo: Per determinare l'effetto di Tipi di Campioni Alternativi, è stato prelevato del sangue da 34 volontari in provette semplici,

eparinizzate, EDTA ed SST, Becton Dickinson vacutainer di plastica. Undici campioni sono stati diluiti con sieri contenenti anticorpi IgM anti-*Toxoplasma*, e tutti i campioni sono stati dosati con il dosaggio IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Cattura). I risultati sono espressi comerapporto segnale-cut-off. Mediante regressione lineare:

(Plastica EDTA) = 1,02 (Plastica per Siero) + 0,009
r = 0,998

(Plastica Eparina) = 1,00 (Plastica per Siero) – 0,002
r = 0,996

(Plastica SST) = 1,03 (Plastica per Siero) – 0,006
r = 0,994

Valore medio:
0,53 (Plastica per Siero)
0,55 (Plastica EDTA)
0,54 (Plastica Eparina)
0,54 (Plastica SST)

In un altro esperimento, il sangue è stato prelevato da 40 volontari in provette di vetro e di plastica per il siero Becton Dickinson vacutainer. Tutti i campioni sono stati dosati con il dosaggio IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Cattura). I risultati sono espressi come rapporto segnale-cut-off. Mediante regressione lineare:

(Plastica per Siero) = 1,00 (Vetro per Siero) + 0,010
r = 0,808

Valore medio:
0,11 (Plastica per Siero)
0,10 (Vetro per Siero)

Comparazione di Metodi: Il dosaggio è stato comparato ad un dosaggio disponibile in commercio µ-Cattura per il *Toxoplasma* IgM (Kit A) su 195 campioni:

	IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Cattura) (L2KTZ)		
Kit A	Pos	Ind	Neg
Reattivo	18	1	0
Indeterminato	1	0	1
Non reattivo	4	0	170

Correlazione totale: 96,4% (188/195)
Sensibilità relativa: 94,7% (18/19)
Specificità relativa: 97,7% (170/174)
Valore Predittivo Positivo: 78,3% (18/23)
Valore Predittivo Negativo: 99,4% (170/171)

Prestazioni Cliniche

In uno studio clinico effettuato in Europa, sono stati valutati 452 pazienti negativi per il Toxoplasma IgM e 40 pazienti con infezione da Toxoplasma nella fase acuta utilizzando il dosaggio IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Cattura). I campioni sono stati analizzati ed indicazioni positive e negative circa il Toxoplasma IgM sono state definite da metodi diagnostici ben stabiliti, esami clinici ed in base all'andamento sierologico. Dei 452 pazienti definiti come Toxoplasma IgM negativi, 396 erano positivi per le IgG anti-*Toxoplasma*, riflettendo una infezione latente o lontana. Tra questi 396 pazienti che presentavano un'infezione latente, 293 sono stati prelevati da donne in gravidanza in rappresentanza di tutti gli stadi della gravidanza. Le tabelle di cui di seguito presentano i risultati di questo studio.

Comparazione fra tutti i Soggetti:

	Campioni Clinicamente definiti		
IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM µ-Cattura (L2KTZ)	Pos	Indet	Neg
Reattivo	40	0	20
Indeterminato	0	0	6
Non reattivo	0	0	426

Con Casi indeterminati:
Correlazione: 95,9% (472/492); Sensibilità: 100% (40/40); Specificità: 95,6% (432/452)

Senza Casi indeterminati:
Correlazione: 95,9% (466/486); Sensibilità: 100% (40/40); Specificità: 95,5% (426/446)

Comparazione per Soggetti in Gravidanza:

	Campioni Clinicamente definiti		
IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM µ-Cattura (L2KTZ)	Pos	Indet	Neg
Reattivo	0	0	14
Indeterminato	0	0	5
Non reattivo	0	0	274

Con Casi indeterminati:
Specificità: 95,2% (279/293)

Senza Casi Indeterminati:

Specificità: 95,1% (274/288)

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore Nazionale.

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura)

Utilização: Em diagnósticos *in vitro* com o Analisadores dos Sistemas IMMULITE 2000 — na detecção qualitativa de anticorpos IgM para o *Toxoplasma gondii* no soro ou plasma humano (c/ EDTA ou heparina), particularmente em mulheres em idade fértil. Realizado em conjunto com o ensaio para Toxoplasma IgG, pode — se usar o kit de Toxoplasma IgM IMMULITE 2000 (µ-Captura), como auxiliar no diagnóstico da infecção aguda, recente ou reactiva (por *Toxoplasma gondii*).

Números de catálogo:
L2KTZ2 (200 testes)

Código do teste: **TXU** Cor: **Violeta**

A FDA (Food and Drug Administration – EUA-) não aprovou este dispositivo para testes (por ex. rastreio) em dadores de sangue ou plasma.

Sumário e explicação do teste

O Toxoplasma gondii é um parasita intracelular, capaz de infectar a maioria dos mamíferos, espécie humana incluída. A transmissão é efectuada por ingestão de carne mal cozinhada. Em todo o mundo, a percentagem de população infectada variará entre 1% a 90%[7], sendo que - nos EUA – 25 a 30 por cento da população adulta está infectada[3]. A toxoplasmose pode manifestar-se sob várias formas: as infecções são geralmente clinicamente inaparentes, e as infecções latentes normalmente persistem toda a vida.[2] Os sintomas clínicos evidentes são similares á mononucleose infecciosa: com linfoadenopatia, febre, dor de cabeça, mal-estar e por vezes pneumonia e miocardite[6].

Como noutras infecções latentes, a infecção de toxoplasmose aguda pode representar uma séria ameaça para indivíduos imuno-comprometidos e recém-nascidos que desenvolvam a infecção no útero. Os doentes imuno-suprimidos podem desenvolver encefalite, miocardite ou pneumonia[3]. As infecções congénitas normalmente são consequência da infecção materna aguda assintomática. Esta infecção pode causar parto prematuro, aborto espontâneo ou nascimento de nado-morto[4,6]. Os recém-nascidos podem manifestar corioretinite, hidrocefalia, microcefalia, calcificação cerebral e atraso psicomotor[1]. A maioria das crianças infectadas, congenitamente, não exibe sintomas, até atingir uma idade mais adulta[4].

O controle da toxoplasmose requer monitorização serológica dos indivíduos infectados[3], já que o organismo não está predisposto para a cultura. Os testes quantitativos de indicação da presença de IgG (para o toxoplasma) podem revelar-se úteis na determinação de infecção anterior e indicar a reactivação da infecção. É importante dispor de informação diagnóstica precisa, especialmente durante a gestação, já que o tratamento com espiramicina pode reduzir os riscos para o feto[5].

Princípio do Procedimento

O IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura) é um imuno-ensaio de fase sólida, dois ciclos, quimioluminescente, com imuno-captura de anticorpos IgM ligados à enzima quimioluminescente. A fase sólida: uma esfera de polistereno, está revestida com um anti-corpo monoclonal de murino anti-IgM.

Junta-se a amostra do doente e a esfera revestida no Tubo de Reacção. Adiciona-se também nesse tubo um antigénio de *Toxoplasma* marcado com fosfatase alcalina. Depois da lavagem e do período de incubação, o substrato quimioluminescente sofre uma hidrólise em presença da fosfatase alcalina. O IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM

(µ-Captura) é um ensaio imunométrico. A medição dos fotões emitidos, feita pelo luminómetro, é proporcional à presença dos anticorpos IgM de *Toxoxplasma* que se encontrarem na amostra.

Ciclos de incubação: 2 × 30 minutos

Colheita

O doente não necessita de fazer dieta. Não são necessárias preparações especiais.

Fazer a colheita de sangue por venipunção[12], assepticamente, evitando a hemólise, usando tubos simples heparinizados ou tubos com EDTA; separe-se o soro ou o plasma das células.

Recomenda-se a ultra centrifugação para clarear amostras lipémicas.

Amostras hemolisadas podem indiciar o seu tratamento incorrecto antes do envio para o laboratório; portanto, tais resultados devem ser interpretados com cuidado.

As amostras que estiverem turvas, ou contiverem material em partículas, devem ser clarificadas através de centrifugação a baixa velocidade.

A centrifugação de amostras de soro antes da formação completa do coágulo pode resultar na presença de fibrina. Para prevenir resultados errados, devido a essa presença, certifique-se de que a formação do coágulo foi completa, antes de centrifugar as amostras. Algumas amostras, em especial as de doentes submetidos a terapia anti-coagulante, podem necessitar de um período mais longo de tempo de formação do coágulo.

Os tubos para colheita sanguínea, de vários fabricantes, podem dar origem a valores diferentes, o que dependerá dos materiais e aditivos, inclusivé gel ou barreiras físicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. O IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura) não foi ainda testado com todas as variações possíveis directamente relacionadas com os vários tipos de tubos. Consultar a secção Tipos de Amostras Alternativas para obter mais detalhes sobre os tubos que foram testados.

Volume de amostra: 10 µL de soro ou plasma

Estabilidade: 3 dias a 2–8°C, ou 6 meses a –20°C[10].

Factor de pré-diluição automática: 20

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.



PRECAUÇÃO! POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO
Contém material de origem humana. Cada dádiva de sangue ou componente de sangue humano foi testada pelos métodos aprovados pela FDA quanto à presença de anticorpos dos vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e tipo 2 (VIH-2), bem como do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e dos anticorpos do vírus da hepatite C (VHC). Os resultados dos testes foram negativos (não repetidamente reativos). Nenhum teste oferece total garantia de que estes ou outros agentes infeciosos estejam ausentes; este material deve ser manuseado de acordo com as boas práticas laboratoriais e precauções universais.[14-16]

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.



H412, H311, H302

P280, P273, P301 + P312, P302 + P312, P501

Perigo! Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. Tóxico em contacto com a pele. Nocivo por ingestão. Usar luvas de protecção/ vestuário de protecção/ protecção ocular/protecção facial. Evitar a libertação para o ambiente. EM CASO DE INGESTÃO: Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMA-ÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: Caso sinta indisposi-ção, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. Eliminar o conteúdo e o recipiente em conformidade com todos os regulamentos locais, regionais e nacionais.
Contém: azida de sódio; Ajuste de Toxoplasma IgM

	(µ-Captura), Controlos de Toxoplasma IgM (µ-Captura)

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 antigénio de superfície da hepatite B (HBsAg) e para os anticorpos do vírus da hepatite C.

Tendo em conta que nenhum método de ensaio oferece garantias absolutas de que as amostras laboratoriais não contenham HIV, vírus da Hepatite B ou quaisquer outros agentes infecciosos, deve-se manipula as amostras ao nível BS2 (Bio Segurança) conforme vem recomendado (para os casos de qualquer soro humano potencialmente infeccioso, ou amostras de sangue), no Manual do CDC-NIH (Centre for Diseases Control – National Institutes for Health – departamentos Governamentais dos EUA) "*Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 1993".*

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.

Os resultados obtidos para uma amostra específica – com doseamentos dos vários fabricantes – podem variar devido à diferença nos métodos de doseamento e especificidade do reagente. O laboratório deve explicitar ao médico que: "Os resultados seguintes foram obtidos com o IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura) EIA. Não podem comparar-se os resultados obtidos com métodos de doseamento de outros fabricantes".

O(s) Ajuste e Controlo(s) fornecidos com o Dispositivo devem ficar completamente dissolvidos após a reconstituição. A não homogeneidade da solução pode resultar numa diminuição da capacidade de reprodução dos resultados.

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 Toxoplasma (µ-Captura) IgM (L2TZ12)
Com código de barras. 200 pérolas, revestidas de anticorpos de IgM anti-humana monoclonal, de murino. Estáveis até à data limite de validade, a 2–8°C.
L2KTZ2: 1 embalagem

Embalagem de reagentes de Toxoplasma IgM (µ-Captura) (L2TZA2)
Com código de barras. Dois Reagentes:
11,5 mL de tampão de matriz proteica.
11,5 mL de fosfatase alcalina (intestino de bovino) conjugada com antigénio de *Toxoplasma* P-30, em tampão. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KTZ2: 1 embalagem

Antes de utilizar, retire a etiqueta de protecção da tampa deslizante; levante a tampa, remova o remanescente da etiqueta sem 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.

Ajuste de Toxoplasma IgM (µ-Captura) (LTZR)
Soro humano liofilizado com IgM reactiva ao toxoplasma, em tampão, com conservante. O ajuste funciona como Cut-off. Reconstitua cada frasco com **4,0 mL** de água destilada ou desionizada. Misture por inversão ou agitando suavemente, até o material liofilizado se dissolver completamente. (Não é necessária diluição adicional). Estável, após a reconstituição, durante 14 dias, a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KTZ2: 1 frasco

Controlos de Toxoplasma IgM·(µ-Captura) (LTZC1, LTZC2)
LTZC1 (Controlo Negativo): Um frasco contendo soro humano liofilizado não-reactivo ao *Toxoplasma*, com conservante. **LTZC2 (Controlo Positivo):** Um frasco contendo soro humano liofilizado com IgM reactiva ao *Toxoplasma*, com conservante. Reconstitua cada frasco com **2,0 mL** de água destilada ou desionizada. Misture por inversão ou agitando suavemente até o material liofilizado se dissolver completamente. Estável, após a reconstituição, durante 14 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KTZ2: 1 conjunto

O software do IMMULITE 2000 permite a auto-diluição de amostras de controlo, e os resultados serão localizados na base de dados do CQ. Introduzir os controlos como controlos.

Para os valores de controlo, consulte o folheto incluso.

As etiquetas de Aliquotas com códigos de barras estão dentro dos kits. Usam-se nos ajustes e nos controlos. Antes de usar, devem pôr-se as etiquetas nos tubos de ensaio respectivos, de modo a que os códigos possam ser lidos pelo leitor de códigos do IMMULITE 2000.

Diluente de amostra para IgG/IgM (L2IGZ2)
Para diluições no aparelho, de amostras, doentes e controlos. 55 mL concentrado pronto a usar, matriz proteica em tampão, de origem não-humana, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KTZ2: 1 frasco

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2KTZ2: 3 etiquetas

Componentes do kit fornecidos separadamente

Diluente de amostra para IgG/IgM (L2IGZ2)
Para diluições no aparelho, de amostras, doentes e controlos. 55 mL concentrado pronto a usar, matriz proteica em tampão, de origem não-humana, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2IGZ2: 1 frasco

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2IGZ2: 5 etiquetas

L2SUBM: Substrato quiomioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Kit de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)
L2ZT: 250 Tubos de diluente da amostra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

Também necessários
Água destilada ou desionizada; tubos de amostra.

Procedimento de doseamento

Ter em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000.

Consultar o Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000 relativamente aos procedimentos de preparação, diluição, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável:
2 semanas

Amostras de Controlo de Qualidade:
Os controlos doToxoplasma IgM (µ-Captura) (LTZC1-2) fornecidos com o kit, devem usar-se como material de controlo na monitorização do desempenho do ensaio, na zona de Cut-offs. O controlo positivo usa-se para validar o ensaio IMMULITE 2000

Toxoplasma IgM (µ-Captura) a nível crítico, quando se procede à determinação da presença de uma infecção de toxoplasma activo.

A juntar aos controlos fornecidos, os utilizadores podem querer usar mais controlos adicionais, segundo as necessidades que tiverem.

Os controlos adicionais podem testar-se de acordo com as linhas de orientação ou com o prescrito pelos regulamentos municipais, estaduais e/ou federais, ou outras organizações de acreditação.

Recomenda-se também que as amostras reactivas e não- reactivas conhecidas, sejam testadas periodicamente para assegurar a exactidão da pipetagem e fase de diluição.

Devem processar-se os controlos no início ou próximo do início de cada ensaio com amostras de doentes, para a Toxoplasma IgM e também na fase dos reajustes.

Recomenda-se que os utilizadores do sistema IMMULITE 2000 consultem o documento C24-A da NCCLS: *Internal Quality Control Testing: Principles and Definitions*, caso queiram obter mais orientações sobre controlo de qualidade dos princípios básicos e definições usadas quando se trata de testar o controlo de qualidade interna.

Cálculo do Cut-off e da razão Amostra/CO: O Cut-off do ensaio foi determinado a partir de amostras representativas, de modo a obter-se sensibilidades e especificidades óptimas.

O valor do Cut-off é igual à média das contagens por segundo (média de cps) do Ajuste (do ajuste mais recente) multiplicado pelo parâmetro 1 da curva. (Veja os campos “CPS do Ajuste Baixo” e “Parâmetro 1 da Curva” no ecrã de Informação do kit IMMULITE 2000, a que pode aceder-se no menu pela Entrada do Kit)

O cálculo da razão: sinal da amostra/CO é feito segundo a seguinte fórmula:

$$\text{Razão S/CO} = \frac{\text{Cps da amostra ou control}}{\text{Cps Média ajuste} \times \text{P1}}$$

Os cálculos qualitativos (reactivo / não reactivo / indeterminados) e a razão S/CO são efectuados automaticamente pelo IMMULITE 2000.

O resultado da amostra é “indeterminado” se os CPS da amostra estiverem situados no intervalo de ±10% do cut-off. O resultado é “reactivo” se os CPS da amostra forem superiores ao intervalo em que se considera indeterminado; e “não reactivo” se forem inferiores.

Interpretação dos resultados

O cutoff do ensaio IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura) foi determinado com amostras de doentes reactivos e não-reactivos, mediante uma análise ROC tendo em conta uma consideração equilibrada da sensibilidade e da especificidade.

Um resultado **“Reactivo”** (rácio de ≥ 1.1) indica que a amostra do doente é reactiva e que foram detectados anticorpos IgM *Toxoplasma* na amostra.

A resultado de **“Não-reactivo”** (rácio de < 0.9) indica que a amsotra do doente é não-reactiva e que não foram detectados anticorpos IgM *Toxoplasma* na amostra.

Qualquer resultado **“indeterminado”** (razão s/co entre 0,9 e 1,1) deverá ser testado de novo. As amostras que continuam a dar “indeterminado” deverão ser testadas por um método alternativo, ou então proceder-se à colheita de uma segunda amostra – se possível – dentro de um período razoável de tempo (por exemplo, uma semana).

A presença de anticorpos IgM para o *Toxoplasma* é uma indicação de exposição prévia ao vírus.[11]

A intensidade dos resultados obtidos (cps) acima do cut-off não é indicativa da quantidade total dos anticorpos detectados.

No caso de o controlo – positivo ou negativo – se vier a situar fora dos limites especificados na Secção ‘Controlo de Qualidade’, recomenda-se que se não proceda à interpretação dos resultados.

Nos relatórios para o médico, o laboratório deve assinalar que: “os resultados apresentados foram obtidos com o sistema IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura) EIA. Os valores obtidos com a aplicação de outros métodos, de outros fabricantes, não são intermutáveis”.

Não deve diagnosticar-se uma infecção aguda, apenas a partir do resultado de um

só teste. Se se suspeitar que há infecção aguda, deve testar-se uma amostra do doente, para detectar a presença de anticorpos específicos quer da IgG do *Toxoplasma* quer da IgM. Há que interpretar os resultados segundo as linhas de orientação definidas na tabela que segue; e há que obter nova amostra, caso seja aplicável.

Resultado Anti-*Toxoplasma gondii*		
IgM	**IgG**	**Relatório/Interpretação**
Não reactivo	Não reactivo	Presume-se que o doente não tenha sido infectado por *Toxoplasma gondii* e que não evoluirá para uma fase aguda. Se os sintomas persistirem testar uma nova amostra dentro de 3 semanas.
Não reactivo	reactivo	Com estes resultados não se pode determinar quando o doente está ou não perante uma infecção por *Toxoplasma gondii.* Aparentemente parece ter previamente havido infecção por *Toxoplasma gondii*. A infecção deve ter ocorrido há mais de um ano.
Não reactivo	Indet.	Deve obter-se uma nova amostra para novo teste. O doente pode não evoluir para uma infecção aguda por *Toxoplasma gondii. Não é possivel determinar quando o doente foi previamente infectado com Toxoplasma gondii.*
Indet.	Não reactivo	Deve obter-de uma nova amostra para dosear os anticorpos IgM para o *Toxoplasma gondii*. Não se pode determinar se o doente vai evoluir para uma infecção aguda por *Toxoplasma gondii.* Parece que o doente não foi previamente infectado pelo *Toxoplasma gondii.* Se o resultado de uma nova amostra para anticorpos IgM for reactivo ou indeterminado, envie-se a amostra para um laboratório de referência, com experiência no diagnóstico de toxoplasmose, para novos testes.
Indet.	Reactivo	Obter uma nova amostra para a detecção de anticorpos IgM para o *Toxoplasma gondii*. Não pode determinar-se se o doente vai ou não evoluir para uma infecção aguda por *Toxoplasma gondii.* Parece que o doente foi previamente infectado por *Toxoplasma gondii.* Se o resultado de uma nova amostra, para anticorpos IgM, for reactivo ou indeterminado, a amostra deve ser enviada para um laboratório de referência com experiência no diagnóstico de toxoplasmose, para novos testes.
Indet.	Indet.	Obter uma nova amostra para mais testes. Não pode ser determinado se o doente vai evoluir para uma infecção aguda ou se foi previamente infectado pelo *Toxoplasma gondii.* Se o resultado da nova amostra for indeterminado ou reactivo para os anticorpos IgM, envie-se a amostra para um laboratório de referência, com experiência no diagnóstico de toxoplasmose, para mais testes.

Resultado Anti-*Toxoplasma gondii*		
IgM	**IgG**	**Relatório/Interpretação**
Reactivo	Não reactivo	Obter uma nova amostra para mais testes. O doente pode ou não estar com uma infecção aguda por *Toxoplasma gondii*. Como os anticorpos IgG para o *Toxoplasma gondii* são não- reactivos, a amostra deve ser obtida na fase inicial do processo da doença, para se determinar a sua fase aguda. Testar a nova amostra com diferentes ensaios para o anticorpo IgM do *Toxoplasma gondii.* Se o resultado da nova amostra se mantiver reactivo para os anticorpos IgM, envie-se a amostra para um laboratório de referência, com experiência no diagnóstico de toxoplasmose, para mais testes.
Reactivo	Reactivo	O doente pode ou não ter uma infecção aguda por *Toxoplasma gondii.* Obter uma nova amostra para mais testes. Como os anticorpos IgG para o *Toxoplasma gondii* são reactivos, o facto sugere que o doente deve sofrer de infecção aguda por *Toxoplasma gondii.* Deve repetir-se a nova amostra recorrendo a diferentes ensaios para o anticorpo IgM do *Toxoplasma gondii.* Se o resultado da nova amostra se mantiver reactivo para os anticorpos IgM e IgG do *Toxoplasma gondii* envie-se a amostra para um laboratório de referência, com experiência no diagnóstico de toxoplasmose, para mais testes.
Reactivo	Indet.	Não pode determinar-se se o doente está com uma infecção aguda por *Toxoplasma gondii.* Obter uma nova amostra para mais testes. Não é possivel determinar quando ocorreu a infecção. A amostra deve ser colhida no início do processo da doença, para se determinar a fase aguda. Voltar a testar a nova amostra com diferentes ensaios para o anticorpo IgM do *Toxoplasma gondii.* Se o resultado da nova amostra se mantiver reactivo para a IgM e a IgG for reactivo / não reactivo / equívoco para os anticorpos do *Toxoplasma gondii* – envie-se a amostra para um laboratório de referência, com experiência no diagnóstico de toxoplasmose, para mais testes.

Valores de Referência

Os indivíduos infectados com toxoplasma exibem, tipicamente, níveis detectáveis de anticorpo IgM, imediatamente após a ocorrência dos sintomas.[2] Os níveis de IgM, em regra, decrescem durante 4 a 6 semanas, mas podem persistir em níveis baixos até um ano.[4] Doentes com coriorretinite activa por *toxoplasma* normalmente possuem níveis não detectáveis de IgM.[4]

A prevalência da infecção por Toxoplasma pode variar em função de um número de factores como: idade, sexo, localização geográfica, situação sócio-económica, raça, tipo de teste aplicado, colheita e processamento da amostra, e história clínica e epidemiológica do doente. Nos EUA, registam-se aproximadamente 3000 casos/ ano de toxoplasmose congénita, com uma média de 0,6 casos por cada 1000 grávidas[13].

Limitações

Os resultados do teste devem ser avaliados dentro do contexto da história clínica do doente, sintomatologia e outros dados laboratoriais. Os resultados do kit IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura) por si só, não constituem um diagnóstico, e devem interpreter-se à luz das condições clínicas de cada doente, e dos resultados de outros procedimentos diagnósticos.

Para determinação da evolução da seroconversão de não- reactivo para reactivo, devem ser colhidas duas amostras de soro, com intervalo de 3 ou 4 semanas, durante as fases aguda e de convalescença da infecção. A amostra da fase aguda deve ser armazenada e testada em paralelo com a amostra de convalescença.

Os resultados em doentes com HIV, em doentes com terapia imunossupressora, ou em doentes com outras doenças que desencadeiem imunosupressão, devem ser interpretados com cuidado. Um resultado não-reactivo para a IgM do *Toxoplasma* não exclui a possibilidade de infecção aguda em doentes imuno-comprometidos. Os anticorpos específicos para o *Toxoplasma gondii*, em regra são baixos, e os anticorpos específicos da IgM para o *Toxoplasma gondii* podem não ser detectados em doentes que sejam imunocomprometidos.

As características de desempenho deste doseamento não foram estabelecidas para uso com amostras neo-natais, sangue do cordão, ou doentes de pré-transplante.

Adicionaram-se anticorpos para a IgG humana aos reagentes, afim de remover IgG específica e factores reumatóides, que podem acarretar respostas falsamente reactivas.

O ensaio com o IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura) foi idealizado tendo como objectivo apenas matrizes de amostras de soro e plasma humanos.

A presença de anticorpos IgM numa mesma amostra não basta para distinguir infecções activas ou já passadas. Doentes suspeitas de ser portadoras de infecção primária ou activa devem submeter-se a testes de detecção da presença de anticorpos IgG para o *Toxoplasma gondii*.

Se atempadamente se prescrever o tratamento adequado, a produção de anticorpos diminuirá, e os níveis de IgG IgM situar-se-hão a níveis baixos, podendo coexistir durante anos.

A presença ou ausência continuada de anticorpos não pode ser usada para demonstrar se a terapia prescrita teve êxito ou se falhou.

Os resultados reactivos de testes efectuados podem não ser válidos para indivíduos que tenham recebido transfusões de sangue, ou quaisquer outros produtos derivados, há alguns meses atrás.

Os testes não devem ser feitos como se se tratasse de um rastreio da população em geral. O valor de previsibilidade dos resultados sorológicos reactivos ou não-reactivos, depende da possibilidade de a toxoplasmose estar presente no pré-teste. Os testes só devem ser executados quando houver qualquer prova clínica que sugira o diagnóstico da toxoplasmose.

Este teste não se destina a determinar a existência de um estado de imunidade. Visa, isso sim, determinar a reacção dos anticorpos de uma doente, com o objectivo de indicar uma infecção activa para o *Toxoplasma gondii*; não é pois indicador de imunidade.

Podem ocasionalmente vir a persistir níveis baixos de anticorpos da IgM, por um período de tempo superior a 12 meses, após a infecção. Uma tal reacção residual dos anticorpos pode distinguir-se da reacção inicial da IgM à infecção activa se testarem os soros da doente num prazo de 2 a 4 semanas, com o kit IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura); e por referência aos níveis variáveis de anticorpos IgG para o*Toxoplasma*.

Habitualmente os anticorpos específicos da IgM são detectados em doentes com infecção primária recente, mas podem também encontrar-se em doentes com innfecções reactivadas ou secundárias. Podem também, por vezes, encontrar-se em doentes sem prova detectável de infecção recente.

As amostras colhidas muito no início do processo infeccioso primário, por *Toxoplasma gondi,* podem não conter níveis detectáveis de anticorpos IgM específicos. Nalguns doentes, os anticorpos IgM específicos podem reverter para níveis não- reactivos num prazo de três semanas após a infecção por *Toxoplasma gondi*. Os doseamentos de anticorpos IgG específicos para o *Toxoplasma gondiI* podem também ter relevância na avaliação serológica destes doentes.

Com os analitos de muito pouca prevalência, como é o caso dos anti-IgM para o *Toxoplasma gondiI*, há a possibilidade acrescida de um resultado reactivo ser um falso-reactivo, reduzindo o valor de previsibilidade positivo do ensaio.

Dada a alta sensibilidade do ensaio, podem ser detectadas amostras provenientes de uma infecção subaguda por Toxoplasma. Os resultados destas amostras devem ser também avaliados no contexto do exame clínico, historial médico do paciente e outros achados clínicos.

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.] As amostras de doentes habitualmente expostas a produtos ou soros de animais podem demonstrar este tipo de interferência, potencial causadora 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 terapêutica do doente e outros dados correlacionáveis.

Características do Ensaio

Para obter informações sobre dados *representativos* do desempenho do doseamento, consulte *Tabelas e Gráficos*. Os resultados são expressos numa proporção para um cut-off.

Precisão: foram processadas amostras, em duplicado, por um período de 20 dias, a dois ensaios por dia, perfazendo um total de 40 ensaios e 80 réplicas. (Consulte a tabela "Precision".)

Reactividade-cruzada: foi feito um estudo para avaliar se os doseamentos de anticorpos IgM para o *Toxoplasma* são afectados por micro-organismos com ele relacionados. Foram testados 87 soros negativos contendo anticorpos para o Varicella Zoster Virus (*n*=3), Sarampo (*n*=10), Cytomegalovirus (CMV) (*n*=10), herpes simplex virus (*n*=10), *Toxoplasma* (*n*=10), *Mycoplasma pneumoniae* (*n*=10), Epstein-Barr Virus (*n*=10), Sifilis (*n*=10) e Parvovirus (*n*=8) e factor reumatóide (*n*=6), recorrendo ao IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura), e todos deram resultados não-reactivos.

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.

Biotina: As amostras que contenham biotina a uma concentração de 1500 ng/ml demonstram uma alteração igual ou inferior a 10% nos resultados. Concentrações de biotina superiores a esta poderão originar resultados incorretos para as amostras de doentes.

Hemólise: A presença de hemoglobina em concentrações até 539 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipémia: A presenca de triglicerídios em concentrações até 3000 mg/dL pode influenciar nos resultados. (Ver tabela da "Lipemia".)

Tipo de amostra alternativa: Para avaliar o efeito de Tipos de amostras alternativas, fez-se a colheita de sangue em 34 voluntários, usando tubos ‘vacutainer’ simples, heparinizados EDTA e SST Becton Dickinson. Marcaram-*se* 11 amostras com soros contendo anticorpos IgM do Toxoplasma, e todas as amostras foram ensaiadas segundo o procedimento do IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura). Os resultados são expressos numa proporção de cut-off. Regressão linear:

(EDTA Plástico) = 1,02 (Soro Plástico) + 0,009
r = 0,998

(Heparina Plástico) = 1,00 (Soro Plástico) – 0,002
r = 0,996

(SST Plástico) = 1,03 (Soro Plástico) – 0,006
r = 0,994

Médias:
0,53 (Soro Plástico)
0,55 (EDTA Plástico)
0,54 (Heparina Plástico)
0,54 (SST Plástico)

Noutra experiência, fez-se a colheita de sangue de 40 voluntários para tubos 'vacutainer' de vidro e plástico, da Becton Dickinson. Ensaiaram-se todas as amostras segundo o procedimento do IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura). Os resultados são expressos numa proporção de cut-off. Regressão linear:

(Soro Plástico) = 1,00 (Soro em vidro) + 0,010
r = 0,808

Médias:
0,11 (Soro Plástico)
0,10 (Soro em vidro)

Comparação de Métodos: Comparou-se o ensaio – num total de 195 amostras – com um ensaio para a IgM Toxoplasma 'µ-captura' (Kit A), disponível no mercado.

	IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura) (L2KTZ)		
Kit A	Pos	Ind	Neg
Reactivas	18	1	0
Indeterminadas	1	0	1
Não-reactivas	4	0	170

Concordância total: 96,4% (188/195)
Sensibilidade relativa: 94,7% (18/19)
Especificidade relativa: 97,7% (170/174)
Valor de Previsibilidade Positivo: 78,3% (18/23)
Valor de Previsibilidade Negativo: 99,4% (170/171)

Desempenho clínico

Num estudo clínico levado a cabo na Europa, foram avaliadas – com o IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM (µ-Captura) – amostras de 452 doentes com *Toxoplasma* IgM negativa and 40 com infecção por *Toxoplasma* em fase aguda seguindo o procedimento do IMMULITE 2000. Analisaram-se as amostras e definiram-se as indicações positivas e negativas da IgM *Toxoplasma* segundo reputados métodos de diagnóstico, descobertas clínicas e padrões serológicos. Dos 452 doentes definidos como negativos para a IgM *Toxoplasma*, 396 deram positivo para a IgG *Toxoplasma*, o que reflecte estado de infecção latente ou distante. Entre estas 396 doentes com infecção latente, houve 293 amostras colhidas em grávidas em todos os estágios de gravidez. Nas tabelas que seguem apresentam-se os resultados deste estudo.

Comparações com Todos os sujeitos:

	Amostras clinica/ definidas		
IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM µ-Captura (L2KTZ)	Pos	Ind	Neg
Reactivas	40	0	20
Indeterminadas	0	0	6
Não-reactivas	0	0	426

Com casos indeterminados: Concordancia: 95,9% (472/492); Sensibilidade: 100% (40/40); Especificidade: 95,6% (432/452)

Sem casos indeterminados: Concordancia: 95,9% (466/486); Sensibilidade: 100% (40/40); Especificidade: 95,5% (426/446)

Comparação em Grávidas:

	Amostras clinica/ definidas		
IMMULITE 2000 Toxoplasma IgM µ-Captura (L2KTZ)	Pos	Ind	Neg
Reactivas	0	0	14
Indeterminadas	0	0	5
Não-reactivas	0	0	274

Com casos indeterminados:
Especificidade: 95,2% (279/293)

Sem casos Indeterminados:
Especificidade: 95,1% (274/288)

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE is a trademark of
Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2009 Siemens Healthcare Diagnostics.
All rights reserved.

Made in: UK



Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom



2019-07-16

PIL2KTZ – 19

cc#EU23606, cc#EU23606A

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:



Symbol Definition
En: *In vitro* diagnostic medical device
De: Medizinisches Gerät zur *In-vitro* Diagnose
Es: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
Fr: Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
It: Dispositivo medico per diagnostica *in vitro*
Pt: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*



En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo



Symbol Definition
En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante



En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia



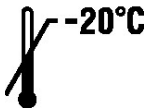
En: CE Mark
De: CE-Kennzeichen
Es: Marca CE
Fr: Marque CE
It: Marchio CE
Pt: Marca CE



En: CE Mark with identification number of notified body
De: CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle
Es: Marca CE con número de identificación del organismo notificado
Fr: Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié
It: Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato
Pt: Marca CE, com número de identificação do organismo notificado



En: Consult instructions for use
De: Bedienungshinweise beachten
Es: Consulte las instrucciones de uso
Fr: Consulter le mode d'emploi
It: Consultare le istruzioni per l'uso
Pt: Consulte as instruções de utilização

Symbol	Definition
	**En:** Caution! Potential Biohazard **De:** Vorsicht! Biologisches Risikomaterial **Es:** ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial **Fr:** Avertissement ! Risque biologique potentiel **It:** Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico **Pt:** Atenção! Potenciais Riscos Biológicos
	**En:** Temperature limitation (2–8°C) **De:** Temperaturgrenze (2–8°C) **Es:** Limitación de temperatura (2–8°C) **Fr:** Limites de température (2–8°C) **It:** Limiti di temperatura (2–8°C) **Pt:** Limites de temperatura (2–8°C)
	**En:** Upper limit of temperature (≤ -20°C) **De:** Obere Temperaturgrenze (≤ -20°C) **Es:** Límite superior de temperatura (≤ -20°C) **Fr:** Limite supérieure de température (≤ -20°C) **It:** Limite superiore di temperatura (≤ -20°C) **Pt:** Limite máximo de temperatura (≤ -20°C)
	**En:** Lower limit of temperature (≥ 2°C) **De:** Mindesttemperatur (≥ 2°C) **Es:** Límite inferior de temperatura (≥ 2°C) **Fr:** Limite inférieure de température (≥ 2°C) **It:** Limite inferiore di temperatura (≥ 2°C) **Pt:** Limite mínimo de temperatura (≥ 2°C)
	**En:** Do not freeze (> 0°C) **De:** Nicht einfrieren (> 0°C) **Es:** No congelar (> 0°C) **Fr:** Ne pas congeler (> 0°C) **It:** Non congelare (> 0°C) **Pt:** Não congelar (> 0°C)
	**En:** Do not reuse **De:** Nicht zur Wiederverwendung **Es:** No reutilizar **Fr:** Ne pas réutiliser **It:** Non riutilizzare **Pt:** Não reutilizar

Symbol	Definition
	**En:** Keep away from sunlight **De:** Vor Sonneneinstrahlung schützen **Es:** Proteger de la luz solar **Fr:** Maintenir hors de portée de la lumière du soleil **It:** Non esporre alla luce del sole **Pt:** Manter afastado da luz solar
	**En:** Batch code **De:** Chargenbezeichnung **Es:** Número de lote **Fr:** Numéro de code du lot **It:** Codice lotto **Pt:** Código de lote
	**En:** Contains sufficient for (n) tests **De:** Es reicht für (n) Tests **Es:** Contiene suficiente para (n) pruebas **Fr:** Contient du matériel suffisant pour (n) tests **It:** Contiene materiale sufficiente per (n) test **Pt:** Contém o suficiente para (n) testes
2008-01	**En:** Date format (year-month) **De:** Datumsformat (Jahr-Monat) **Es:** Formato de fecha (año-mes) **Fr:** Format de la date (année-mois) **It:** Formato data (anno-mese) **Pt:** Formato de data (ano-mês)
	**En:** Use by **De:** Verwendbar bis **Es:** Fecha de caducidad **Fr:** A utiliser avant **It:** Usare entro **Pt:** Usar até
	**En:** Health Hazard **De:** Gesundheitsgefährdung **Es:** Peligro para la salud **Fr:** Dangereux pour la santé **It:** Pericolo per la salute **Pt:** Perigo para a saúde
	**En:** Exclamation Mark **De:** Ausrufezeichen **Es:** Signo de exclamación **Fr:** Point d'exclamation **It:** Punto esclamativo **Pt:** Ponto de exclamação
	**En:** Corrosion **De:** Korrosion **Es:** Corrosión **Fr:** Corrosion **It:** Corrosione **Pt:** Corrosão

Symbol	Definition
	**En:** Skull and Crossbones **De:** Totenkopf mit gekreuzten Knochen **Es:** Calavera y tibias cruzadas **Fr:** Tête de mort sur tibias croisés **It:** Teschio e tibie incrociate **Pt:** Caveira sobre tíbias cruzadas
	**En:** Environment **De:** Umwelt **Es:** Medio ambiente **Fr:** Environnement **It:** Ambiente **Pt:** Ambiente
BEAD PACK	**En:** Bead Pack **De:** Kugel-Container **Es:** Cartucho de bolas **Fr:** Cartouche de billes **It:** Contenitore di biglie **Pt:** Embalagem de esferas
TEST UNIT	**En:** Test Unit **De:** Testeinheit **Es:** Unidades de análisis **Fr:** Unité de test **It:** Test Unit **Pt:** Unidades de Teste
REAG WEDGE **REAG WEDGE A** **REAG WEDGE B** **REAG WEDGE D**	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste
ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto

Symbol	Definition
ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL **CONTROL 1** **CONTROL 2** **CONTROL 3**	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo

Symbol	Definition
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

Toxoplasma Quantitative IgG

For the Quantitative Measurement of IgG Antibodies to Toxoplasma gondii in Human Serum

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 Toxoplasma Quantitative IgG

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE 2000 Systems Analyzers — for the quantitative measurement of IgG antibodies to *Toxoplasma gondii* in serum, as an aid in the determination of serological status to *Toxoplasma gondii*.

> This kit is not FDA-cleared for use in the testing (i.e. screening) of blood or plasma donors.

Catalog Number: **L2KTXP2** (200 tests)
Test Code: **TXP** Color: **Light Gray**

Summary and Explanation

Toxoplasma gondii is an obligate intracellular parasite capable of infecting most mammals, including humans. The organism is transmitted through ingestion of insufficiently cooked meat. Throughout the world, 1 to 90 percent of populations may be infected,[7] with 25 to 30 percent of the adult population infected in the United States.[3] While toxoplasmosis may be manifested in several forms, infections are usually clinically inapparent, and latent infections usually persist for life.[2] Overt clinical symptoms are similar to infectious mononucleosis, with lymphadenopathy, fever, headache, malaise and sometimes pneumonia and myocarditis.[6]

As with other latent infections, acute toxoplasma infection can pose a serious threat to immunocompromised individuals and newborns who acquire the infection *in utero*. Immuno-suppressed patients may develop encephalitis, myocarditis or pneumonitis.[3] Congenital infections usually result as a consequence of asymptomatic acute maternal infection. This infection can cause premature delivery, spontaneous abortion or stillbirth.[4,6] Neonates may manifest chorioretinitis, hydrocephaly, microcephaly, cerebral calcification and psychomotor retardation.[1] The majority of congenitally infected children will not exhibit any symptoms until later in life.[4]

Management of toxoplasmosis requires serological monitoring of infected individuals,[3] as the organism is not readily available for culture. Quantitative testing for the presence of toxoplasma IgG can be useful to determine prior infection and indicate reactivation of the infection. Accurate diagnostic information is important, particularly during pregnancy, as treatment with spiramycin can reduce the risk to the fetus.[5]

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 Toxoplasma Quantitative IgG is a solid-phase, enzyme-labeled chemiluminescent sequential immunometric assay. The solid phase (bead) is coated with inactivated, partially purified *Toxoplasma gondii* antigen (RH strain tachyzoites from mouse peritoneum). The liquid phase consists of two reagents: 1) protein based buffer and 2) alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to monoclonal murine anti-human IgG antibody.

In the first cycle, the on-board diluted patient sample (1-in-20) and the protein based buffer are incubated together with the coated bead for 30 minutes. During this time, IgG antibodies specific to *Toxoplasma gondii* in the sample binds to inactivated *Toxoplasma gondii* antigen on the bead. Unbound sample is then removed by centrifugal washes.

In the second cycle, the enzyme conjugated monoclonal murine anti-human IgG antibody is added to the original reaction tube for additional 30 minutes incubation. The enzyme conjugated monoclonal murine anti-human IgG antibody binds to the immobilized IgG to form antibody sandwich complex. The unbound enzyme conjugate is removed by centrifugal washes. Finally, chemiluminescent substrate is added to the reaction tube containing the bead and the signal is generated in proportion to the bound enzyme.

Incubation Cycles: 2 × 30 minutes.
Time to First Result: 65 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.

Samples which are cloudy or have particulate material should be clarified by low-speed centrifugation.

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 Toxoplasma Quantitative IgG 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: 10 µL serum. After automatic sample predilution, 10 µL is used for the immunoassay.

Automatic Predilution Factor: 20.

Storage: 3 days at 2–8°C, or 6 months at –20°C.[12]

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.



CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD
Contains human source material. Each donation of human blood or blood component was tested by FDA-approved methods for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) as well as for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis C virus (HCV). The test results were negative (not repeatedly reactive). No test offers complete assurance that these or other infectious agents are absent; this material should be handled using good laboratory practices and universal precautions.[14-16]

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.

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.

The bead is coated with *inactivated* toxoplasma antigen. However, caution is advised because of the possible presence of residual organism when working with, or disposing of, the materials supplied.

The anti-toxoplasma IgG results determined for a given specimen with assays from different manufacturers can vary due to differences in assay methods and reagent specificity. Therefore, the results reported by the laboratory to the physician should include: "The following results were obtained with the IMMULITE 2000 Toxoplasma Quantitative IgG EIA. Results obtained from other manufacturers' assay methods may not be used interchangeably."

Materials Supplied

Components are a matched set. Labels on the inside box are needed for the assay.

Toxoplasma Quantitative IgG Bead Pack (L2TXP12)
With barcode. 200 beads, coated with inactivated, partially purified *Toxoplasma gondii* antigen (RH strain tachyzoites from mouse peritoneum). Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KTXP2: 1 pack.

Toxoplasma Quantitative IgG Reagent Wedge (L2TXPA2)
With barcode. 2 reagents: 11.5 mL of a protein-based buffer, with preservative. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to monoclonal murine anti-human IgG antibody in buffer, with preservative. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KTXP2: 1 wedge.

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.

Toxoplasma Quantitative IgG Adjustors (LTXPL, LTXPH)
Two vials (Low and High), 4 mL each, of human serum with IgG reactive to toxoplasma, in buffer, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KTXP2: 1 set.

Before running adjustors or controls, place the appropriate Aliquot Labels (supplied with the kit) on test tubes, so that the barcodes can be read by the on-board reader.

Toxoplasma IgG Controls (LTXPC1, LTXPC2, LTXPC3)
Three vials (Negative, Low Positive and Positive), 2 mL each. **LTXPC1 (Negative Control):** One vial containing human serum with IgG nonreactive to toxoplasma, with preservative. **LTXPC2, LTXPC3 (Low Positive Control, Positive Control):** Two vials containing human serum with IgG reactive to toxoplasma, with preservative. Stable at 2–8°C for 14 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KTXP2: 1 set.

The IMMULITE 2000 software performs automatic on-board dilution of control samples, and the results will be tracked in the QC database. Enter controls as controls.

Refer to the control insert for concentration levels.

IgG/IgM Sample Diluent (L2IGZ2)
For the on-board dilution of patient samples and controls. 55 mL concentrated (ready-to-use) nonhuman protein/buffer matrix, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2KTXP2: 1 vial.

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.
L2KTXP2: 3 labels.

Kit Components Supplied Separately

IgG/IgM Sample Diluent (L2IGZ2)
For the on-board dilution of patient samples and controls. 55 mL concentrated (ready-to-use) nonhuman protein/buffer matrix, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or 6 months (aliquotted) at –20°C.
L2IGZ2: 1 vial.

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.
L2IGZ2: 5 labels.

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate
L2PWSM: Probe Wash
L2KPM: Probe Cleaning Kit
LRXT: Reaction Tubes (disposable)
L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

LTXPCM: Tri-level Toxoplasma IgG Control Module

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 Systems Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval: 4 weeks.

Quality Control Samples: Use Toxoplasma IgG Controls supplied with the kit.

The negative and positive controls are intended to monitor for substantial reagent failure. The positive control provided will not ensure precision of the cut-off.

In addition to the controls provided, users may wish to run additional controls to cover the upper range of the assay. Additional controls may be tested in accordance with guidelines or requirements of local, state and/or federal regulations or accrediting organizations.[11]

It is also recommended that known reactive and nonreactive specimens be run periodically to assure pipetting accuracy for the dilution step.

Interpretation of Results

IMMULITE 2000 Toxoplasma Quantitative IgG assay is standardized in terms of the World Health Organization's Third International Standard for Anti-Toxoplasma Serum. The assay's cutoff is determined from representative positive and negative samples (confirmed by an ELISA method) using the ROC (Receiver Operating Characteristic) technique.

Reactive: A result greater than or equal to 8 IU/mL is indicative of a past infection.

Nonreactive: A result less than 6.5 IU/mL is considered to be nonreactive. *Results less than 6.5 IU/mL should be reported as Nonreactive only, and no numerical concentration should be reported.*

Indeterminate : A result greater than or equal to 6.5 IU/mL and less than 8 IU/mL is considered indeterminate.

Samples greater than 250 IU/mL should be reported as "greater than 250 IU/mL". Specimens reporting a result of greater than 250 IU/mL, when tested at the required 1-in-21 auto-dilution, may be further diluted with the IMMULITE 2000 IgG/IgM Sample Diluent.

The presence of IgG antibodies to *Toxoplasma gondii* is an indication of previous exposure to the organism. A single specimen can be used to estimate the serological status of the individual.

A result of "indeterminate" indicates an intermediate level of *Toxoplasma gondii* antibodies in the sample: the sample should therefore be retested. Samples which still test as "indeterminate" should be examined by an alternate method, or a second sample should be collected, if possible, within a reasonable period of time (e.g. one week).

Any interpretation of the results is not recommended if the positive or negative control falls outside the range specified in the Quality Control section.

The magnitude of the reported IgG level cannot be correlated to an endpoint titer.

Reports by the laboratory to the physician should include: "The following results were obtained with the IMMULITE 2000 Toxoplasma Quantitative IgG EIA. Values obtained from other manufacturers' assay methods may not be used interchangeably."

Expected Values

Individuals with the toxoplasma organism may not exhibit detectable levels of IgG antibody in the early stages of infection. Levels of IgG antibody to *Toxoplasma gondii* begin to rise one or two weeks after infection. Peak levels are reached in 6 to 8 weeks, then gradually decline over a period of months or even years. Low titers are generally detectable for life. The antibody titer does not correlate with severity of illness.[2,4,6]

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

Limitations

The use of IMMULITE 2000 Toxoplasma Quantitative IgG to diagnose recent infection by testing paired sera has not been validated.

The results of the test must be taken within the context of the patient's clinical history, symptomology and other laboratory findings.

The presence of IgG antibodies in a single specimen is not sufficient to distinguish between active and past infection. Patients suspected of having a primary or active toxoplasma infection should be tested for the presence of IgM antibodies to *Toxoplasma gondii*.

For the determination of seroconversion from nonreactive to reactive, a second serum sample should be drawn three to four weeks after the acute, nonreactive sample, during the convalescent stage of the infection. The acute phase sample should be stored and tested in parallel with the convalescent sample.

Individuals with an acute toxoplasma infection may not exhibit any detectable IgG antibodies at the early stage of infection.

The results in HIV patients, in patients undergoing immunosuppressive therapy, or in patients with other disorders leading to immunosuppression, should be interpreted with caution.

The performance characteristics of this assay have not been established for use with specimens from neonates, cord blood, pretransplant patients, or body fluids other than serum, such as urine, saliva or amniotic fluid.

Heterophilic antibodies in human serum can react with the immunoglobulins included in the assay components causing interference with *in vitro* immunoassays. [See Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988:34:27-33.] Samples from patients routinely exposed to animals or animal serum products can demonstrate this type of interference potentially causing an anomalous result. These reagents have been formulated to minimize the risk of interference; however, potential interactions between rare sera and test components can occur. For diagnostic purposes, the results obtained from this assay should always be used in combination with the clinical examination, patient medical history, and other findings.

Performance Data

See Tables and Graphs for data *representative* of the assay's performance. Results are expressed in IU/mL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Reportable Range: 5–250 IU/mL. Standardized in terms of WHO 3rd IS for Anti-Toxoplasma Serum, Human.

Analytical Sensitivity: ≤ 5.0 IU/mL.

Precision: Samples were assayed in duplicate in 40 runs for a total of 80 replicates. (See “Precision” table.)

Specificity: The specificity of the IMMULITE 2000 Toxoplasma Quantitative IgG assay was evaluated by testing 73 specimens reactive for *Mycoplasma pneumoniae*, syphilis, varicella-zoster virus, parvovirus B19, cytomegalovirus (CMV), Epstein-Barr virus, HSV 1 and measles. With these specimens, IMMULITE 2000 Toxoplasma Quantitative IgG and IMMULITE Toxoplasma Quantitative IgG show 99% agreement (72/73).

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 539 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 15 volunteers into plain, heparinized, EDTA and Becton Dickinson SST® vacutainer tubes. Equal volumes of the matched samples were spiked at various levels with sera containing IgG antibodies to *Toxoplasma*, and then assayed by the IMMULITE 2000 Toxoplasma Quantitative IgG procedure, with the following results.

(Heparin) = 1.1 (Serum) – 0.81 IU/mL
r = 0.985

(EDTA) = 1.0 (Serum) + 1.4 IU/mL
r = 0.949

(SST) = 1.1 (Plain Tubes) – 2.9 IU/mL
r = 0.915

Means:
65 IU/mL (Serum)
68 IU/mL (Heparin)
67 IU/mL (EDTA)
66 IU/mL (SST)

Method Comparison 1: The assay was compared to IMMULITE Toxoplasma Quantitative IgG on 33 samples. (Concentration range: approximately 5 to 112 IU/mL. See “Method Comparison 1” graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 1.0 (IML) + 2.0 IU/mL
r = 0.994

Means:
30 IU/mL (IMMULITE 2000)
28 IU/mL (IMMULITE)

Method Comparison 2: The assay was compared to IMMULITE Toxoplasma Quantitative IgG on 40 samples. (Concentration range: approximately 5 to 162 IU/mL. See “Method Comparison 2” graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 1.04 (IML) + 1.3 IU/mL
r = 0.963

Means:
35 IU/mL (IMMULITE 2000)
33 IU/mL (IMMULITE)

References

1) Daffos F. Prenatal management of 746 pregnancies at risk for congenital toxoplasmosis. N Engl J Med 1988;318: 271-5. 2) Krick JA, Remington JS. Toxoplasmosis in the adult: an overview. N Engl J Med 1978;298: 550-3. 3) Krogstad DJ, et al. Blood and tissue protozoa. In: Lennette EH, et al, editors. Manual of clinical microbiology. 4th ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1985: 612-30. 4) McCabe RE, Remington JS. *Toxoplasma gondii*. In: Mandell, Douglas, Bennett, editors. Principles and practice of infectious diseases. 2nd ed. New York: John Wiley, 1985. 5) Jeannel D, et al. What is known about the prevention of congenital toxoplasmosis? Lancet 1990;336:359-61. 6) Remington JS. McLeod R. Toxoplasmosis. In: Braude, editor. Microbiology and infectious diseases. Philadelphia: Saunders, 1981. 7) Walls KW. Toxoplasmosis. In: Balows A, et al, editors. Laboratory diagnosis of infectious diseases. New York: Springer-Verlag, 1988: 998-1017. 8) Baltz ML, Searcy RL. Clinical significance and advanced serologic diagnosis of ToRCH infections. Am Clin Lab 1994 (Mar/Apr): 18-23. 9) Wilson M, et al. Seroepidemiology of toxoplasmosis in the United States. Abstract presented at the American Society for Microbiology, May 1994. 10) Approved standard procedures for the handling and processing of blood specimens, NCCLS Document H18-A, 1991. 11) International Quality Control testing: principles and definitions, NCCLS Document C24-A, 1991. 12) Tietz NW, editor. Clinical guide to laboratory tests. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1995:358. 13) 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. 14) Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. MMWR, 1988;37:377–82, 387–8. 15) Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3. 16) Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030.

Additional references : Abdalla KF. Congenital toxoplasmosis among premature infants with different clinical pictures in Saudi Arabia. J Egypt Soc Parasitol, 1994 Dec. ♦ Albrecht H. Disseminated toxoplasmosis in AIDS patients – report of 16 cases. Scand J Infect Dis 1995. ♦ Attia RA. Toxoplasma IgG & IgM antibodies. A case control study. J Egypt Soc Parasitol. 1995 Dec. ♦ Bretagne S. Central nervous system toxoplasmosis in AIDS (letter, comment). N Engl J Med 1993 May 6. ♦ Brindle R. Toxoplasma antibodies in HIV-positive patients from Nairobi. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1991 Nov-Dec. ♦ Camargo ME. Avidity of specific IgG antibodies as markers of recent primary infection caused by *Toxoplasma gondii*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, 1991 May-Jun. ♦ Choi WY. Foodborne outbreaks of human toxoplasmosis. J Infect Dis, 1997 May. ♦ Derouin F. Predictive value of *Toxoplasma gondii* antibody titres on the occurrence of toxoplasmic encephalitis in HIV-infected patients. ANRS 005/ACTG 154 Trial Group. AIDS 1996 Nov. ♦ Durmaz R. Seropositivity of toxoplasmosis among reproductive-age women in Malatya, Turkey. J Egypt Soc Parasitol, 1995 Dec. ♦ El-Nawawy A. Maternal and neonatal prevalence of toxoplasma and cytomegalovirus (CMV) antibodies and hepatitis-B antigens in an Egyptian rural area. J Trop Pediatr, 1996 Jun. ♦ Gilbert RE. Prevalence of toxoplasma IgG among pregnant women in west London according to country of birth and ethnic group (see comments). BMJ, 1993 Jan 16. ♦ Gomez-Marin JE. A maternal screening program for congenital toxoplasmosis in Quindio Colombia and application of mathematical models to estimate indicences using age-stratified data. Am J Trop Med Hyg, 1997 Aug. ♦ Guerina NG. Neonatal serologic screening and early treatment for congenital *Toxoplasma gondii*

infection : The New England Regional Toxoplasma Working Group Isee comments. N Engl J Med, 1994 Jun 30. ♦ Hajeer AH. *Toxoplasma gondii* : detection of antibodies in human saliva and serum. Parasite Immunol, 1994 Jan. ♦ Harning D. Recombinant *Toxoplasma gondii* surface antigen 1 (P30) expressed in Escherichia coli is recognized by human Toxoplasma-specific immunoglobulin M (IgM) and IgG antibodies. Clin Diagn Lab Immunol, 1996 May. ♦ Hellerbrand C. High predictive value of *Toxoplasma gondii* IgG antibody levels in HIV-infected patients for diagnosis of cerebral toxoplasmosis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1996 Nov. ♦ Idris MA. Prevalence of IgG antibodies against *Toxoplasma gondii* in human sera from Dhofar, Oman. Ann Trop Med Parasitol, 1994 Feb. ♦ Israelski DM. Prevalence of Toxoplasma infection in a cohort of homosexual men at risk of AIDS and toxoplasmic encephalitis (see comments). J Acquir Immune Defic Syndr, 1993 Apr. ♦ Jacquier P. Epidemiology of toxoplasmosis in Switzerland : national study of seroprevalence monitored in pregnant women 1990-1991. Schweiz Med Wochenschr Suppl, 1995. ♦ Johnson AM. Cloning of Toxoplasma gonddi gene fragments encoding diagnostic antigens. Gene, 1991 Mar 1. ♦ Julvez J. Seroepidemiology of toxoplasmosis in Niamey, Niger. Med Trop (Mars), 1996. ♦ Konishi E. Naturally occuring immunoglobulin M antibodies to *Toxoplasma gondii* in Japanese populations. Parasitology 1991 Apr. ♦ Lappalainen M. Outcome of children after maternal primary Toxoplasma infection during pregnancy with emphasis on avidity of specific IgG. The Study Group. Pediatr Infect Dis J 1955 May. ♦ Lebech M. Neonatal screening for congenital toxoplasmosis in Denmark : presentation of the design of a prospective study. Scand J Infect Dis Suppl, 1992. ♦ Lebech M. Occurrence of toxoplasmosis in pregnant women in Denmark. A study of 5402 pregnant women. Ugeskr Laeger, 1995 Sep 18. ♦ Low incidence of congenital toxoplasmosis in children born to women infected with human immunodeficiency virus. European Collaborative Study and Research Network on Congenital Toxoplasmosis. 1996 Sep. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 1996 Sep. ♦ Petithory JC. Performance of European laboratories testing serum samples for *Toxoplasma gondii*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1996 Jan. ♦ Rai SK. Immunoglobulin M and G antibodies in mice in response to *Toxoplasma gondii* (S-273) infection and their antigen recognition patterns in western blotting on various post-infection days. Kansenshogaku Zasshi, 1994 Nov. ♦ Sadaruddin A. Seroepidemiology of *toxoplasma gondii* infection in young school children in Islamabad. JPMA J Pak Med Assoc, 1991 Jun. ♦ Sahwi SY. Toxoplasmosis as a cause of repeated abortion. J Obstet Gynaecol, 1995 Apr. ♦ Vinhal FA. Analysis of aqueous humor in ocular toxoplamsosis : detection of low avidity IgG specific to *Toxoplasma gondii*. Appl Parasitol, 1994 Feb. ♦ Zufferey J. Prevalence of latent toxoplasmosis and serological diagnosis of active infection in HIV-positive patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1993 Aug.

Technical Assistance

In the United States, contact Siemens Healthcare Diagnostics Technical Services department. Tel: 877.229.3711. Outside the United States, contact your National Distributor.

www.siemens.com/diagnostics

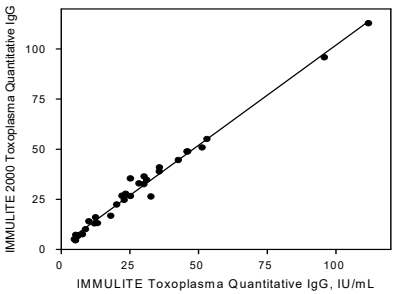
The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

Precision (IU/mL)

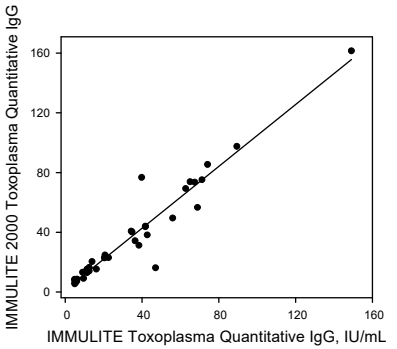
		Within-Run[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	7.60	0.42	5.5%	1.25	16.4%
2	10.2	0.62	6.1%	1.05	10.3%
3	11.9	0.77	6.5%	2.30	19.3%
4	14.6	0.89	6.1%	1.24	8.6%
5	46.7	2.17	4.7%	4.21	9.0%
6	66.1	3.73	5.6%	6.63	10.0%
7	81.9	5.40	6.6%	11.8	14.4%
8	142	9.1	6.4%	17.1	12.0%

Method Comparison 1 (IU/mL)



(IML 2000) = 1.0 (IML) + 2.0 IU/mL
r = 0.994

Method Comparison 2 (IU/mL)



(IML 2000) = 1.04 (IML) + 1.3 IU/mL
r = 0.963

Deutsch. **Precision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]S (Standardabweichung), [5]CV (Variationskoeffizient). **Methodenvergleich**: Toxoplasma Quantitative IgG: Toxoplasma IgG quantitativ.

Español. **Precision**: [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV. **Method Comparison**: Toxoplasma Quantitative IgG: Toxoplasma Cuantitativo IgG.

Français. **Precision**: [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]SD, [5]CV. **Method Comparison**: Toxoplasma Quantitative IgG: Toxoplasmose IgG quantitative.

Italiano. **Precision**: Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione). **Method Comparison**: Toxoplasma Quantitative IgG: Toxoplasma Quantitativo IgG.

Português. **Precision**: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação. **Method Comparison**: Toxoplasma Quantitative IgG: Toxoplasma Quantitativo IgG.

Deutsch

Toxoplasma IgG quantitativ

Anwendung: Zur in vitro-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme — zur quantitativen Bestimmung von IgG-Antikörpern gegen *Toxoplasma gondii* (Toxoplasma) in Serum als Hilfestellung zur Bestimmung des serologischen Status gegen *Toxoplasma gondii*.

Dieses Testsystem ist von der US-amerikanischen Lebensmittel- und Medikamentenbehörde FDA nicht für Screening-Tests mit Blut- oder Plasmaspendern freigegeben.

Artikelnummern:
L2KTXP2 (200 Tests)

Testcode: **TXP** Farbe: **hellgrau**

Klinische Relevanz

Toxoplasma gondii ist ein obligater intrazellulärer Parasit, der die meisten Säugetiere – einschließlich Menschen – befällt und zu Infektionen führt. Der Erreger wird durch den Verzehr von ungenügend gekochtem Fleisch übertragen. Weltweit sind möglicherweise zwischen 1 und 90 Prozent aller Populationen infiziert,[7] in den USA sind es 25–30% der erwachsenen Bevölkerung.[3] Toxoplasmosen können sich in verschiedenen Formen manifestieren, normalerweise sind die Infektionen jedoch klinisch unauffällig und in ihrer latenten Form lebenslang präsent.[2] Offenkundige klinische Symptome sind infektiöse Mononukleosen mit Lymphadenopathien, Fieber, Kopfschmerzen, Unwohlsein und gelegentlich auch Lungenentzündungen und Myokarditiden.[6]

Wie andere latente Infektionen können auch akute Toxoplasmosen bei immungeschwächten Patienten und bei *in utero* infizierten Neugeborenen eine ernsthafte Bedrohung darstellen. Bei immunsupprimierten Patienten können Enzephalitis, Myokarditis oder Pneumonitis entstehen.[3] Kongenitale Infektionen sind normalerweise das Resultat einer asymptomatischen akuten Infektion der Mutter. Diese Infektionen könen zu Frühgeburten, Spontanaborten oder Totgeburten führen.[4,6] Bei Neugeborenen können Chorioretinitiden, Hydrozephalie, Mikrozephalie, zerebrale Kalkablagerungen sowie psychomotorische Behinderungen auftreten.[1] Die Mehrzahl der kongenital infizierten Kinder zeigt erst im späteren Leben Symptome.[4]

Da der Erreger von Toxoplasmosen nicht ohne weiteres kultiviert werden kann, müssen die infizierten Patienten serologisch überwacht werden.[3]

Quantitative Bestimmungen von Toxoplasma-IgG können nützlich sein, um frühere und reaktivierte Infektionen anzuzeigen. Genaue diagnostische Daten sind vor allem bei Schwangerschaften wichtig, da eine Behandlung mit Spiramycin das Risiko für den Fetus herabsetzen kann.[5]

Methodik

Der IMMULITE 2000 Toxoplasma Quantitativ IgG ist ein sequentieller Festphasen enzymmarkierter Chemilumineszenz immunometrischer Assay. Die Festphase (Kugel) ist mit inaktivierten partiell aufgereinigten *Toxoplasma gondii* Antigen(RH StammTachyzoiten aus dem Mausperitoneum) beschichtet. Die Flüssigphase besteht aus zwei Reagenzien: 1.) Proteinbasierte Pufferlösung und 2. Alkalische Phosphatase(Rinderkalbsdarm) konjugiert an monoklonales Maus anti-Human IgG.

Im ersten Inkubationsschritt inkubiert die onboard-verdünnte(1-in-20) Patientenprobe und der Proteinpuffer mit der beschichteten Kugel für 30 Minuten. Während dieser Zeit binden spezifische Toxoplasma IgG Antikörper aus der Probe an das *Toxoplasma gondii* Antigen auf der Kugel. Ungebundene Probe wird anschliesend durch einen zentrifugalen Waschschritt entfernt.

Im zweiten Inkubationsschritt wird der enzymkonjugierte monoklonale Maus-anti human IgG Antikörper in das Reaktionsröhrchen zugegeben und für weitere 30 Minuten inkubiert. Der enzymkonjugierte monoklonale Maus-anti human IgG Antikörper bindet an das immobilisierte IgG und bildet einen Sandwichkomplex. Das ungebundene Enzymkonjugat wird durch einen weiteren zentrifugalen Waschschritt entfernt. Am Schluss wird Chemilumineszenz Substrat in das die Kugel enthaltende Reaktionsröhrchen gegeben und ein Signal wird proportional zum gebundenen Enzym gebildet.

Inkubationszyklen: 2 × 30 minuten.
Zeit zum ersten Ergebnis: 65 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 zurückhaltend zu interpretieren.

Trübe oder partikelhaltige Proben sollten bei niedriger Geschwindigkeit zentrifugiert werden, bis sie klar sind.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter 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 Toxoplasma IgG quantitativ sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 10 µl Serum. Nach automatischer Vorverdünnung der Probe wird 10 µl für den Immunoassay verwendet.

Faktor für automatische Vorverdünnung: 20.

Lagerung: 3 Tage bei 2–8°C oder 6 Monate bei –20°C.[12]

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *In-vitro*-Diagnostik.

VORSICHT! BIOLOGISCHES RISIKOMATERIAL
Enthält Material humanen Ursprungs. Alle Blutspenden oder Blutkomponenten menschlicher Herkunft wurden nach FDA-genehmigten Methoden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die HI-Viren Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2) sowie von Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und Antikörpern gegen den Hepatitis C-Virus (HCV) getestet. Die Testergebnisse waren negativ (nicht wiederholt reaktiv). Durch keinen Test kann das Vorhandensein dieser oder anderer infektiöser Stoffe vollständig ausgeschlossen werden. Dieses Material ist mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und gemäß der allgemein anerkannten guten Laborpraxis zu handhaben.[14-16]

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.

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.

Die Festphase des Tests ist mit *inaktiviertem* Toxoplasma-Antigen beschichtet. Wegen des potenziellen Vorhandenseins überlebender Mikroorganismen ist jedoch beim Arbeiten und beim Entsorgen von den im Lieferumfang enthaltenen Materialien Vorsicht geboten.

Unterschiede in der jeweiligen Methodik oder der Spezifität der Reagenzien könnten jedoch dazu führen, das die mit Testsystemen von verschiedenen Herstellern ermittelten Anti-Toxoplasmose-IgG-Ergebnisse für dieselben Proben nicht einheitlich sind. Die vom Labor an den Arzt weitergegebenen Ergebnisse sollten daher den folgenden Passus enthalten: „Die folgenden Ergebnisse wurden mit dem IMMULITE 2000-Testsystem zur quantitativen Bestimmung von Toxoplasmose-IgG erzielt." Sie sind nicht mit den Ergebnissen der Testsysteme anderer Hersteller austauschbar.

Im Lieferumfang enthalten

Die Bestandteile der Testpackung sind aufeinander abgestimmt. Die Barcode-Aufkleber auf der Innenverpackung werden zur Testdurchführung gebraucht.

Toxoplasma quantitativ IgG Kugel-Container (L2TXP12)
Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit inaktiviertem, partiell gereinigtem *Toxoplasma-gondii*-Antigen (Tachyzoiten, Stamm RH, aus Mausperitoneum). Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.
L2KTXP2: 1 Container.

Toxoplasma quantitativ IgG - Reagenzbehälter (L2TXPA2)
Mit Barcodes. Zwei Reagenzien: 11,5 ml einer proteinbasierten Pufferlösung (mit Konservierungsmittel); 11,5 ml alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm), konjugiert mit einem murinem, monoklonalen anti-Human IgG-Antikörper in Pufferlösung (mit Konservierungsmittel). Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.
L2KTXP2: 1 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.

Toxoplasma quantitativ IgG Kalibratoren (LTXPL, LTXPH)
Zwei Fläschchen (niedrig und hoch), 4 ml jedes, mit Toxoplasma-reaktivem IgG in einer Pufferlösung (mit Konservierungsmittel). 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KTXP2: 1 Set.

Toxoplasma IgG Kontrollen (LTXPC1, LTXPC2, LTXPC3)
Drei Fläschchen (Negativ, Schwachpositiv und Positiv) jeweils mit 2 ml Kontrollen.
LTXPC1 (Negativkontrolle): Ein Fläschchen Humanserum mit Anikörpern nicht reaktiv gegen Toxoplasma (mit Konservierungsmittel).
LTXPC2, LTXPC3 (Schwach-positiv-kontrolle, Positivkontrolle): Zwei Fläschchen Humanserum mit IgG-Antikörpern reaktiv gegen Toxoplasma IgG (mit Konservierungsmittel). 14 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KTXP2: 1 Set.

Die IMMULITE 2000 Software führt automatische on-board-Verdünnungen der Kontrollen durch. Diese können im Qualitätsprogramm rückverfolgt werden. Geben Sie die Kontrollen als Kontrollen ein.

Die Konzentrationen entnehmen Sie bitte der Beilage zu den Kontrollen.

IgG/IgM–Verdünnungspuffer (L2IGZ2)
Zum automatischen Verdünnen der Patientenproben und Kontrollen. 55 ml Nichthumane Protein/Puffermatrix (konzentriert, gebrauchsfertig) mit Konservierungsmittel. 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2KTXP2: 1 Fläsche.

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2KTXP2: 3 Etiketten.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

IgG/IgM–Verdünnungspuffer (L2IGZ2)
Zum automatischen Verdünnen der Patientenproben und Kontrollen. 55 ml Nichthumane Protein/Puffermatrix (konzentriert, gebrauchsfertig) mit Konservierungsmittel. 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).
L2IGZ2: 1 Fläsche.

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2IGZ2: 5 Etiketten.

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße
L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm) für die Probenverdünnung
L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

LTXPCM: Toxoplasma IgG Kontrollmodul in drei Konzentrationen

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Röhrchen.

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Verdünnung, Kalibration, Test- und Qualitätskontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
4 Wochen.

Qualitätskontrollseren: Die im Lieferumfang enthaltenen Kontrolle(n) verwenden.

Die Negativ- und Positivkontrollen dienen zur Überwachung der Reagenzien auf wesentliche Mängel. Die gelieferte

Positivkontrolle eignet sich nicht dazu, die Präzision des Cutoff sicherzustellen.

Entsprechend den Richtlinien bzw. Vorschriften der zuständigen regionalen und nationalen Behörden oder zertifizierenden Stellen können weitere Kontrollen getestet werden.[11]

Ferner empfiehlt es sich, regelmäßig Testansätze mit bekannten reaktiven und nichtreaktiven Proben durchzuführen, um die Pipettiergenauigkeit für den Verdünnungsschritt zu gewährleisten.

Interpretation der Ergebnisse

Der IMMULITE-2000 Toxoplasma-IgG qantitativ ist entsprechend dem Dritten Internationalen WHO-Standard für Anti-Toxoplasma-Serum standardisiert. Der Cutoff des Testsystems wurde mit Hilfe der ROC-Technik *(Receiver Operating Characteristic)* aus repräsentativen positiven und negativen Proben (verifiziert mittels ELISA) ermittelt.

Reaktiv: Ein Ergebnis von ≥ 8 IU/ml weist auf eine vergangene Infektion hin.

Nicht-reaktiv: Ein Ergebnis von unter 6,5 IU/ml gilt als nicht-reaktiv. *Ergebnisse von unter 6,5 IU/ml sollten lediglich als* nicht-reaktiv *ausgewiesen werden, ohne dabei die gemessene Konzentration numerisch darzustellen.*

Grenzwertig: Ein Ergebnis von ≥ 6,5 IU/ml und < 8 IU/ml gilt als grenzwertig.

Proben mit einem Wert von größer als 250 IU/ml sollten als „größer als 250 IU/ml“ ausgewiesen werden. Proben die bei der erforderlichen 1:21 Verdünnung einen Wert von mehr als 250 IU/ml liefern können ggf. mit dem IMMULITE 2000 IgG/IgM Verdünnungspuffer weiter verdünnt werden.

Sind IgG-Antikörper gegen *Toxoplasma gondii* vorhanden, so deutet dies auf eine frühere Exposition gegen den Erreger hin. Einzelproben eignen sich ausschließlich zur Bewertung des serologischen Status der betreffenden Person.

Ein grenzwertiges Ergebnis weist auf einen nicht eindeutigen IgG-Antikörperspiegel hin. In diesem Fall sollte die Probe erneut getestet werden. Weist diese Probe ebenfalls ein grenzwertiges Ergebnis auf, so sollte entweder mit einer alternativen Methode getestet werden oder innerhalb eines entsprechenden Zeitraumes (z. B. eine Woche) eine zweite Probe abgenommen werden.

Liegen die Positiv- oder Negativkontrollen außerhalb des im Abschnitt „Quality Control“ // „Qualitätskontrolle“ angegebenen Bereichs, so ist von einer Bewertung der Ergebnisse abzusehen.

Die Größenordnung der ausgewiesenen IgG-Konzentration kann nicht mit einem Endtiter korreliert werden.

Die vom Labor an den Arzt weitergegebenen Ergebnisse sollten daher den folgenden Passus enthalten: „Die folgenden Ergebnisse wurden mit dem IMMULITE-2000-Testsystem zur quantitativen Bestimmung von Toxoplasmose-IgG erzielt." Sie sind nicht mit den Ergebnissen der Testsysteme anderer Hersteller vergleichbar.

Referenzwerte

Im Frühstadium einer Infektion mit dem Toxoplasma-Erreger sind möglicherweise keine nachweisbaren Konzentrationen an IgG-Antikörpern vorhanden. Die IgG-Antikörperspiegel gegen *Toxoplasma gondii* steigen normalerweise ein bis zwei Wochen nach der Primärinfektion an. Die Spitzenwerte werden innerhalb von 6–8 Wochen erreicht und fallen dann über Monate oder sogar Jahre hinaus allmählich wieder ab. Niedrige Titer bleiben meist für den Rest des Lebens nachweisbar. Es besteht keine Korrelation zwischen Antikörpertiter und dem Schweregrad der Erkrankung.[2,4,6]

Betrachten Sie diese Grenzwerte nur als *Richtlinien*. Jedes Labor sollte eigene Referenzbereiche ermitteln.

Grenzen Der Methode

Der Einsatz des IMMULITE 2000 Toxoplasma-IgG quantitativ ist nicht für die Diagnose einer küzlich durchgemachten Infektion mittels gepaarter Seren validiert.

Die Testergebnisse sind vor dem Hintergrund der klinischen Anamnese, der Beschwerden des Patienten sowie weiterer Laborbefunde zu bewerten.

Das Vorhandensein von IgG-Antikörpern in Einzelproben reicht nicht aus, um zwischen einer aktiven und einer vergangenen Infektion zu unterscheiden. Patienten mit Verdacht auf eine Primär- bzw. aktive Infektion sollten auf das Vorhandensein von IgM-Antikörpern gegen das *Toxoplasma gondii* untersucht werden.

Zur Bestimmung einer Serokonversion von nichtreaktiv zu reaktiv sollte während der Rekonvaleszenzphase drei bis vier Wochen nach der nichtreaktiven Probe eine zweite Serumprobe abgenommen werden. Die Probe aus der Akutphase sollte gelagert und parallel zur Rekonvaleszenzprobe getestet werden.

Im Frühstadium einer akuten *Toxoplasmose-Infektion* sind möglicherweise keine nachweisbaren IgG-Antikörper vorhanden.

Die Ergebnisse bei HIV-Patienten sowie behandlungs- oder krankheitsbedingt immunsupprimierten Patienten sollten zurückhaltend interpretiert werden.

Die Testcharakteristika sind nicht für den Gebrauch mit Proben von Neugeborenen, Nabelschnurblut, Prätransplantationspatienten und nicht für andere Körperflüssigkeiten als Serum wie etwa Urin, Speichel oder Fruchtwasser etabliert.

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 IU/ml ausgedrückt. (Alle Daten wurden – sofern nicht anders angegeben – aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Messbereich: 5–250 IU/ml. Standardisiert nach der Dritten Internationalen WHO-Standard für humanes Anti-Toxoplasma-Serum.

Analytische Sensitivität: ≤ 5,0 IU/ml

Präzision: Die Proben wurden in 40 Ansätzen in Doppelbestimmung, ingesamt also in 80 Tests, gemessen. (Siehe Tabelle „Precision.“)

Spezifität: Die Spezifität des IMMULITE 2000 Toxoplasma Quantitativ IgG Tests wurde mit 73 Proben, die Reaktiv für Cytomegalie (CMV), Varizelle zoster (VZV), Epstein-Barr-Virus (EBV), Mycoplasma pneumoniae und Parvovirus B19 waren, evaluiert. Diese Proben zeigten mit dem IMMULITE 2000 Toxoplasma quantitativ IgG eine 99%ige Übereinstimmung (72/73) mit einem kommerziell erhältlichen Toxoplasma IgG Enzymimmunotest.

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 539 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.

Alternativer Probentyp: Um die Auswirkungen von verschiedenen Probenarten zu untersuchen, wurde Blut von 15 Freiwilligen in Röhrchen ohne Additiva, in Heparin-, EDTA- und Becton Dickinson SST® Vacutainer-Rörchen gesammelt. Gleiche Volumina der jeweiligen Proben wurden in unterschiedlichen Konzentrationsbereichen mit Toxoplasma IgG -Antikörper enthaltenden Seren versetzt und danach

im IMMULITE 2000 Toxoplasma IgG quantitav Assay eingesetzt.

(Heparin) = 1,1 (Serum) – 0,81 IU/ml
r = 0,985

(EDTA) = 1,0 (Serum) + 1,4 IU/ml
r = 0,949

(SST) = 1,1 (einfachen Röhrchen) – 2,9 IU/ml
r = 0,915

Mittelwerte:
65 IU/ml (Serum)
68 IU/ml (Heparin)
67 IU/ml (EDTA)
66 IU/ml (SST)

Methodenvergleich 1: Der Assay wurde unter Verwendung von 33 Patientenproben mit IMMULITE Toxoplasma quantitativ IgG verglichen. Konzentrationsbereich ca. 5–112 IU/ml. Siehe Grafik „Method Comparison 1“.) Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 1,0 (IML) + 2,0 IU/ml
r = 0,994

Mittlewert:
30 IU/ml (IMMULITE 2000)
28 IU/ml (IMMULITE)

Methodenvergleich 2: Der Assay wurde unter Verwendung von 40 Patientenproben mit IMMULITE Toxoplasma quantitativ IgG verglichen. Konzentrationsbereich ca. 5–162 IU/ml. Siehe Grafik „Method Comparison 2“.) Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 1,04 (IML) + 1,3 IU/ml
r = 0,963

Mittelwert:
35 IU/ml (IMMULITE 2000)
33 IU/ml (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

Toxoplasma Cuantitativo IgG

Utilidad del análisis: Para diagnóstico *in vitro,* empleado con los analizadores IMMULITE 2000 — para la cuantificación en suero de anticuerpos IgG frente a *Toxoplasma gondii* (toxoplasma), como una ayuda en la determinación del estado serológico para *Toxoplasma gondii*.

> Este kit no tiene autorización de la FDA para su uso en pruebas (detección precoz) de donantes de sangre o plasma.

Números de Catálogo:
L2KTXP2 (200 tests)

Código del Test: **TXP** Color: **Gris claro**

Resumen y Explicación del Test

Toxoplasma gondii es un parásito intracelular obligado, capaz de infectar a la mayoría de los mamíferos, incluyendo al humano. El organismo se transmite por ingestión de carne poco cocinada. Por todo el mundo, del 1 al 90% de la población puede ser infectada,[7] con un 25 – 30 por ciento de la población adulta de Estados Unidos infectada.[3] Mientras que la toxoplasmosis puede manifestarse de diversas formas, las infecciones son normalmente clínicamente inaparentes, y las infecciones latentes persisten normalmente durante toda la vida.[2] Los síntomas clínicos son similares a los de una infección por mononucleosis, con linfadenopatía, fiebre, dolor de cabeza, malestar general y algunas veces neumonía y miocarditis. [6]

Al igual que otras infecciones latentes, la infección aguda por toxoplasma puede presentar una serie amenaza para los individuos inmunocomprometidos y los recién nacidos, quienes adquieren la infección *en el útero*. Los individuos inmunosuprimidos pueden desarrollar encefalitis, miocarditis o neumonitis.[3] Las infecciones congénitas normalmente resultan como consecuencia de una infección aguda asintomática en la madre. Esta infección puede causar: parto

prematuro, aborto espontáneo o el nacimiento sin vida del feto.[4,6] Los neonatos pueden presentar coriorretinitis, hidrocefalia, microcefalia, calcificación cerebral y retraso psicomotor.[1] La mayoría de los niños infectados congénitamente no mostrarán ningún síntoma hasta más tarde.[4]

El seguimiento de la toxoplasmosis requiere el control serológico de los individuos infectados,[3] ya que el cultivo de este organismo no es posible. Un análisis cuantitativo para estudiar la presencia de IgG contra toxoplasma puede ser útil para determinar una infección anterior e indicar la reactivación de la infección. Una información precisa del diagnóstico es importante, especialmente durante el embarazo, puesto que el tratamiento con espiramicina puede reducir los riesgos para el feto.[5]

Principio del análisis

El ensayo IMMULITE 2000 Toxoplasma IgG Cuantitativo es un ensayo inmunométrico en fase sólida, secuencial, quimioluminsicente. La fase sólida (bola) se encuentra recubierta con antígeno inactivado, parcialmente purificado de *Toxoplasma gondii* (RH taquizoitos filtrados de peritoneo de ratón). La fase líquida consiste en dos recativos:
1) Solución tampón de base proteica
2) fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con anticuerpo monoclonal de ratón anti IgG humana.

En el primer ciclo, la muestra del paciente diluída en el sistema (1 en 20) y la solución tampón de base proteica son incubados junto con la bola recubierta durante 30 minutos. Durante este tiempo, los anticuerpos IgG específicos frente a *Toxoplasma gondii* en la muestra se uen al antígeno inactivado de T*oxoplasma gondii* sobre la bola. La muestra no unida es entonces eliminada mediante lavado y centrifugación.

En el segundo ciclo, el anticuerpo monoclonal de ratón anti- IgG humana conjugado con la enzima se añade al tubo de reacción original y se realiza una incubación adicional de 30 minutos. El anticuerpo monoclonal de ratón frente IgG humana conjugado con el enzima se ne a la IgG inmobilizada para formar un complejo tipo sandwich de anticuerpos. El conjugado enzimático no unido es eliminado por lavado y centrifugación. Finalmente, se añade el sustrato quimioluminiscente al tubo de reacción que contiene la bola y se genera una señal proporcional al enzima unido.

Ciclos de incubación: 2 × 30 minutos.
Tiempo hasta el primer resultado: 65 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.

Las muestras que estén turbias o tengan un material particular deben aclararse mediante una centrifugación a baja velocidad.

La centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El Toxoplasma Cuantitativo IgG 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: 10 µl de suero. Después de una predilución automática de la muestra, 10 µl son usados para el inmunoensayo.

Factor de Predilución automático: 20.

Conservación: 3 días a 2–8°C, o 6 meses a –20°C.[12]

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.



¡PRECAUCIÓN! RIESGO BIOLÓGICO POTENCIAL
Contiene material de origen humano. Cada donación de sangre humana o componente sanguíneo ha sido probada por métodos aprobados por la FDA con el fin de detectar la presencia de anticuerpos de los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2), así como el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y el anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (VHC). Los resultados de estas pruebas fueron negativos (no repetidamente reactivos). Ninguna prueba ofrece total garantía de que en las muestras no haya estos agentes infecciosos u otros; por tanto, este material se deberá manipular conforme a las prácticas recomendables de laboratorio y las precauciones universales.[14-16]

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.

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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, 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: Use agua destilada o desionizada.

La bola está recubierta con antígeno *inactivado* de toxoplasma. Sin embargo, se recomienda precaución ante la posible presencia de organismo residual cuando trabajamos o desechamos los materiales suministrados.

La concentración de IgG contra Toxoplasma en una muestra dada, determinada mediante ensayos de distintos fabricantes, puede variar debido a diferencias en los métodos de los ensayos y a la especificidad del reactivo. Por lo tanto, en el informe de resultados del laboratorio para el médico debe incluirse: "Los siguientes resultados se obtuvieron con EIA IgG Cuantitativo contra Toxoplasma IMMULITE 2000. No es posible intercambiar los resultados obtenidos por métodos de ensayo de otros fabricantes".

Materiales Suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

Cartucho de bolas de Toxoplasma Cuantitativo IgG (L2TXP12)
Con códigos de barras. 200 bolas recubiertas con antígeno inactivado, parcialmente purificado de *Toxoplasma gondii* (taquizoitos de cepa RH de peritoneo de ratón). Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KTXP2: 1 cartucho.

Vial de reactivo de Toxoplasma Cuantitativo IgG (L2TXPA2)
Con códigos de barras. Dos reactivos: 11,5 ml de una matriz de proteína en solución tampón, con conservante; 11,5 ml de fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada a anticuerpo monoclonal murino anti-IgG humana, en una solución tampón, con conservante. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KTXP2: 1 vial.

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 Toxoplasma Cuantitativo IgG (LTXPL, LTXPH)
Dos viales (bajo y alto) de cada uno con 4 ml de suero humano con IgG reactivo para Toxoplasma, en solución tampon, con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KTXP2: 1 juego.

Controles de Toxoplasma IgG (LTXPC1, LTXPC2, LTXPC3)
Tres viales (Negativo, Bajo Positivo y Positivo) de cada uno con 2 ml. **LTXPC1 (Control negativo):** Un vial que contiene suero humano con IgG no reactivo para toxoplasma, con conservante. **LTXPC2, LTXPC3 (Control bajo positivo, Control Positivo):** contienen suero humano con IgG reactivo para toxoplasma, con conservante. Estable a 2–8°C durante 14 días después de abrirse, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KTXP2: 1 juego.

El software del IMMULITE 2000 realiza una dilución automática en el instrumento de las muestras de los controles, y los resultados serán mostrados en la base de datos del control de calidad. Introduzca los controles como controles en la Lista de trabajo.

Consulte los niveles de concentración en el prospecto del control.

Diluyente de IgG/IgM (L2IGZ2)
Para la dilución de las muestras del paciente y controles que van a analizarse. 55 ml matriz proteica no humana en solución tampón concentrado (listo para usarse), con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2KTXP2: 1 vial.

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 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2KTXP2: 3 etiquetas.

Componentes del kit que se suministran por separado

Diluyente de IgG/IgM (L2IGZ2)
Para la dilución de las muestras del paciente y controles que van a analizarse. 55 ml matriz proteica no humana en solución tampón concentrado (listo para usarse), con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.
L2IGZ2: 1 vial.

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 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2IGZ2: 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 × 100 mm)
L2ZC: 250 Casquillos Del Tubo Del Diluyente De la Muestra

LTXPCM: Módulo de control Toxoplasma IgG de tres niveles

También necesario
Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo.

Ensayo

Aviso: para obtener un funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para: la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:
4 semanas.

Muestras de Control de Calidad: Use los controles suministrados junto con el kit.

Los controles positivo y negativo están diseñados para controlar un fallo importante del reactivo. El control positivo proporcionado no asegurará la precísión del valor de corte.

Además de los controles provistos, los usuarios pueden analizar controles adicionales para cubrir el intervalo superior del ensayo. Pueden analizarse otros controles según las directrices o requisitos de las normas locales, estatales o federales o de las organizaciones acreditadas.[11]

También se recomienda analizar periódicamente muestras conocidas, reactivas o no reactivas, para asegurar la precisión del pipeteado para el paso de dilución.

Interpretación de los Resultados

El ensayo IgG Cuantitativo para Toxoplasma IMMULITE 2000 está estandarizado en términos del Tercer Estándar Internacional para Suero de Anti-Toxoplasma de la Organización Mundial de la Salud. El valor de corte del ensayo se determinó utilizando muestras positivas y negativas representativas (confirmadas por el método ELISA) utilizando la técnica ROC (Curva de rendimiento diagnóstico).

Reactivo: Un resultado superior o igual a 8 IU/ml es indicativo de una infección pasada.

No reactivo: Un resultado inferior a 6,5 IU/ml es considerado no reactivo. *Resultados inferiores a 6,5 IU/ml deben comunicarse solamente como* No reactivos*, y no debe comunicarse la concentración.*

Indeterminado : Un resultado superior o igual a 6,5 IU/ml e inferior a 8 IU/ml se considera indeterminado.

Las muestras con valores superiores a 250 IU/ml deben comunicarse como “superiores a 250 IU/ml". Las muestras que dieron resultados superiores a 250 IU/ml, cuando se examinan con la autodilución necesaria 1-en-21, pueden necesitar diluciones adicionales con el diluyente para muestras IgG/IgM IMMULITE 2000.

La presencia de anticuerpos IgG contra *Toxoplasma gondii* es indicativo de una exposición previa al organismo. Puede utilizarse sólo una única muestra para estimar el estado serológico del individuo.

Un resultado “indeterminado” indica un nivel intermedio de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en la muestra: la muestra debe volverse a analizarse. Las muestras que vuelvan a dar un resultado “indeterminado” deben examinarse por un método alternativo, o debe recogerse una segunda muestra, si es posible, en un plazo de tiempo razonable (p.e. una semana).

No se recomienda interpretar los resultados si el control positivo o negativo cae fuera del margen especificado en la Sección Control de Calidad.

La magnitud del nivel de IgG comunicado no puede relacionarse con un título final.

Por lo tanto, en el informe de resultados del laboratorio para el médico debe incluirse: "Los siguientes resultados se obtuvieron con EIA IgG Cuantitativo contra Toxoplasma IMMULITE 2000." No es posible intercambiar los resultados obtenidos por métodos de ensayo de otros fabricantes.

Valores Esperados

Individuos con el organismo toxoplasma pueden no mostrar niveles de anticuerpo IgG detectables en las fases tempranas de la infección. Los niveles de IgG para *Toxoplasma gondii* empiezan a elevarse 1 o 2 semanas después de la infección. Los niveles máximos se alcanzan en 6 – 8 semanas, después descienden gradualmente en los meses y años posteriores. Se detectan títulos bajos generalmente durante toda la vida. El título de anticuerpo no guarda relación con la severidad de la enfermedad.[2,4,6]

Estos límites han de considerarse sólo como una guía. Cada Laboratorio deberá establecer sus propios rangos de referencia.

Limitaciones

El uso de IgG Cuantitativo Toxoplasma IMMULITE 2000 para diagnosticar una infección reciente analizando parejas de sueros no se ha validado.

Los resultados del análisis deben contemplarse en el contexto del historial clínico de los pacientes, de su sintomatología y de los demás hallazgos del laboratorio.

La presencia de anticuerpos IgG en una sola muestra no es suficiente para distinguir entre una infección activa y una antigua. Los pacientes de los que se sospeche que padecen una infección primaria o activa deben analizarse para detectar la presencia de anticuerpos IgM para *Toxoplasma gondii*.

Para determinar la seroconversión de *no reactivo* a *reactivo*, debe recogerse una segunda muestra de suero tres o cuatro semanas después de la infección, muestra no reactiva, durante la etapa de convalecencia de la infección. La muestra de la fase aguda debe almacenarse y analizarse paralelamente a la muestra de la fase de convalecencia.

Los individuos con infección aguda por toxoplasma puede que no presenten niveles detectables de anticuerpos IgG en la fase temprana de la infección.

Los resultados en pacientes infectados con el virus VIH, pacientes bajo una terapia inmunosupresiva, o en pacientes con otros desórdenes que causen inmunosupresión, deben interpretarse con precaución.

No se han establecido las características de funcionamiento del ensayo para utilizarlo con muestras de neonatos, sangre del cordón umbilical, pacientes pretrasplante, u otros fluidos distintos del suero, tales como orina, saliva o líquido amniótico.

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 IU/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).

Rango informable: 5–250 IU/ml. Estandarizado en términos de WHO 3º IS para Suero Humano Anti-Toxoplasma.

Sensibilidad: ≤ 5,0 IU/ml.

Precisión: Las muestras fueron analizadas por duplicado en 40 tandas para un total de 80 replicados. (Ver la tabla "Precision."*)*

Especificidad: La especificidad del ensayo Cuantitativo para Toxoplasma IMMULITE 2000 se evaluó analizando 73 muestras reactivas para citomegalovirus (CMV), virus de varicela-zoster (VZV), virus Epstein-Barr (EBV), *Mycoplasma pneumoniae* y parvovirus B19. Para estas muestras, el ensayo Cuantitativo IgG para Toxoplasma IMMULITE y un inmunoensayo enzimático comercialmente disponible para IgG anti-Toxoplasma (Kit D) mostraron una concordancia del 99% (72/73).

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 539 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 tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Tipo de Muestra Alternativa: para evaluar el efecto de los diferentes tipos de muestras alternativos, se recogió sangre de 15 voluntarios en tubos normales,

tubos con Heparina, tubos con EDTA y tubos vacutainer SST® de Becton Dickinson. Volúmenes iguales de las muestras correspondientes fueron sobrecargadas con distintos niveles de suero que contenia anticuerpos IgG frente a *Toxoplasma*, y entonces fueron analizadas con el ensayo IMMULITE 2000 Toxoplasma Cuantitativo IgG, por regresión lineal:

(Heparina) = 1,1 (Suero) – 0,81 IU/ml
r = 0,985

(EDTA) = 1,0 (Suero) + 1,4 IU/ml
r = 0,949

(SST) = 1,1 (tubos simples) – 2,9 IU/ml
r = 0,915

Medias:
65 IU/ml (Suero)
68 IU/ml (Heparina)
67 IU/ml (EDTA)
66 IU/ml (SST)

Comparación de los métodos 1: El ensayo se ha comparado con el Toxoplasma Cuantitativo IgG IMMULITE en 33 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente 5 a 112 IU/ml. Ver el gráfico “Method Comparison 1”). Por regresión lineal:

(IML 2000) = 1,0 (IML) + 2,0 IU/ml
r = 0,994

Medias:
30 IU/ml (IMMULITE 2000)
28 IU/ml (IMMULITE)

Comparación de los métodos 2: El ensayo se ha comparado con el Toxoplasma Cuantitativo IgG IMMULITE en 40 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente 5 a 162 IU/ml. Ver el gráfico “Method Comparison 2”). Por regresión lineal:

(IML 2000) = 1,04 (IML) + 1,3 IU/ml
r = 0,963

Medias:
35 IU/ml (IMMULITE 2000)
33 IU/ml (IMMULITE)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

IMMULITE 2000 Toxoplasmose Quantitative IgG

Domaine d'utilisation : Dosage quantitative des anticorps IgG dirigés contre *Toxoplasma gondii* dans le sérum. Ce test est réservé à un usage *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000 et constitue une aide dans la détermination du statut sérologique vis à vis de *Toxoplasma gondii*.

> Ce coffret n'est pas habilité auprès de la *Food and Drug Administration* américaine pour le dépistage des donneurs de sang ou de plasma.

Ce réactif est enregistré auprès de l'A.F.S.S.A.P.S.

Référence catalogue :
L2KTXP2 (200 tests)

Code produit : **TXP**
Code couleur : **gris clair**

Introduction

Toxoplasma gondii est un parasite intracellulaire capable d'infecter la plupart des mammifères, y compris l'homme. Le parasite se transmet par l'ingestion de viande insuffisamment cuite. Dans le monde, 1 à 90% des populations est susceptible d'être infecté,[7] 25 à 30% de la population adulte étant infecté au Etats-Unis.[3] Pour la France, 30 à 60% de la population est infectée. Même si la toxoplasmose peut se manifester sous plusieurs formes, les individus infectés restent généralement asymptomatiques et une infection latente persiste habituellement toute la vie.[2] Les symptômes cliniques visibles sont similaires à ceux de la mononucléose infectieuse, avec une lymphadénopathie, de la fièvre, des céphalées, une sensation de malaise et, parfois, une pneumonie et une myocardite.[6]

Comme d'autres infections latentes, l'infection toxoplasmique sévère peut entraîner de graves complications chez les patients immunodéprimés et chez les nouveau-nés qui sont contaminés *in utero*.

Les patients immunodéprimés peuvent développer des encéphalites, des pneumonies et des myocardites.[3] Les infections congénitales sont le plus souvent le résultat d'une infection maternelle asymptomatique. Cette infection peut entraîner la naissance d'enfants prématurés, des avortements spontanés ou la naissance d'enfants mort-nés.[4,6] Les nouveau-nés peuvent souffrir de chorio-rétinite, d'hydrocéphalie, de microcéphalie, de calcifications cérébrales et de retard psychomoteur.[1] La majorité des enfants infectés de manière congénitale resteront asymptomatiques durant une grande partie de leur vie.[4]

Dans la mesure où le parasite n'est pas facile à mettre en culture, la prise en charge de la toxoplasmose demande un contrôle sérologique régulier des individus infectés.[3] Un dosage quantitative d'IgG spécifiques dirigées contre *Toxoplasma gondii* peut être utile pour mettre en évidence une infection antérieure et révéler une réactivation de l'infection. Un diagnostic précis est important, en particulier au cours de la grossesse, puisqu'un traitement par la spiramycine pourra réduire les risques encourus par le fœtus.[5]

Principe du test

Le dosage IMMULITE 2000 Toxoplasma IgG Quantitative est un dosage immunométrique chimiluminescent séquentiel, enzymatique, en phase solide. La phase solide (bille) est revêtue d'antigène inactivé, partiellement purifié, *Toxoplasma gondii* (tachyzoïtes de souche RH, issus de péritoine de souris). La phase liquide consiste en deux réactifs: 1) tampon protéique, 2) phosphatase alcaline (intestins de veau) conjuguée à un anticorps monoclonal murin anti-IgG humaines.

Lors du 1er cycle, l'échantillon de patient dilué à bord de l'automate au 1/20ème et le tampon protéique sont incubés ensemble avec la bille coatée durant 30 minutes. Durant ce temps, les anticorps IgG spécifiques de *Toxoplasma gondii* contenus dans l'échantillon se lient à l'antigène inactivé *Toxoplasma gondii* présent sur la bille. L'échantillon non lié est alors éliminé par lavage avec centrifugation.

Lors du 2nd cycle, l'enzyme conjuguée à l'anticorps monoclonal murin anti-IgG humain est ajoutée au godet réactionnel d'origine pour 30 minutes supplémentaires d'incubation. L'enzyme conjuguée à l'anticorps monoclonal murin anti-IgG humain se lie aux IgG immobilisées pour former un complexe anticorps de type sandwich. Le conjugué enzymatique non lié est alors éliminé par lavage avec centrifugation. Enfin, le substrat chimiluminescent est ajouté au godet réactionnel contenant la bille, le signal alors généré est proportionnel à l'enzyme liée.

Cycles d'incubation : 2 × 30 minutes.
Temps de rendu du premier résultat : 65 minutes

Recueil des échantillons

Il est recommandé de clarifier les échantillons hyperlipémiques par ultracentrifugation.

Des échantillons hémolysés peuvent être signe d'une souffrance du prélèvement avant son arrivée au laboratoire ; il faudra donc interpréter les résultats avec prudence.

Les échantillons troubles ou présentant des particules en suspension devront être clarifiés par centrifugation à vitesse réduite.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dûs 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 Toxoplasmose quantitative IgG 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 : 10 µl de sérum. Après la prédilution automatique de l'échantillon, 10 µl sont utilisés pour l'immunososage.

Facteur de prédilution automatique : 20.

Conservation : 3 jours à +2°C/+8°C ou 6 mois à –20°C.[12]

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.



AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL
Contient du matériel d'origine humaine. Chaque don de sang ou de composant sanguin humain a été testé selon des méthodes homologuées par la FDA afin de détecter la présence d'anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2), ainsi que la présence d'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) et d'anticorps anti-virus de l'hépatite C (VHC). Les résultats de ces tests se sont révélés négatifs (ou positifs mais de façon non répétable). Aucun test ne peut garantir totalement l'absence d'agents infectieux tels que ceux-ci ou d'autres. Par conséquent, ce matériel doit être manipulé conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux précautions universelles.[14-16]

AVERTISSEMENT : Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.

Réactifs : conserver les réactifs à +2/ +8°C. Eliminer les déchets conformément à la réglementation en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-HCV et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

Substrat chimiluminescent : éviter les contaminations et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

Eau : utiliser uniquement de l'eau distillée ou désionisée.

La bille est revêtue d'antigène de *Toxoplasma gondii* inactivé. Cependant, des parasites ayant pu subsister, la prudence est recommandée lors de l'utilisation ou de l'élimination des produits fournis.

Les résultats d' IgG anti-toxoplasme trouvés pour un même échantillon peuvent varier en fonction des différentes techniques utilisées dans les coffrets des différents fabricants. Aussi est-il nécessaire que les résultats rendus par le laboratoire mentionnent : « Les résultats suivants ont été obtenus avec le test IMMULITE 2000 Toxoplasmose IgG quantitative EIA. Les résultats obtenus par des méthodes provenant d'autres fabricants ne peuvent pas être interchangés. »

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 Toxoplasmose IgG quantitative (L2TXP12)
Avec code-barres. 200 billes revêtues d'un antigène *Toxoplasma gondii* inactivé et partiellement purifié (souche RH tachyzoïte provenant d'un péritoine de souris). Stable à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption.
L2KTXP2 : 1 cartouche.

Cartouche à réactif Toxoplasmose IgG quantitative (L2TXPA2)
Avec code-barre. Deux réactifs. 11,5 ml de solution tampon à base de protéines avec conservateur ; 11,5 ml d'anticorps monoclonal murin anti-IgG humaines marqué à la phosphatase alcaline (provenant des intestins de veaux) en

tampon, avec conservateur. Stable à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption. **L2KTXP2 :** 1 cartouche.

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 Toxoplasmose IgG quantitative (LTXPL, LTXPH)
2 flacons d'ajusteurs (« bas » et « haut ») (4 ml chacune) contenant des IgG anti-Toxoplasme dans du sérum humain avec tampon, avec conservateur. Stable à +2/ +8 °C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20 °C.
L2KTXP2 : 1 jeu.

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

Contrôles Toxoplasmose IgG (LTXPC1, LTXPC2, LTXPC3)
Trois flacons (négatif, positif faible et positif) 2 ml chacune. **LTXPC1 (Contrôle Négatif) :** 1 flacon de 2 ml de contrôle négatif contenant du sérum humain sans IgG anti-Toxoplasme, avec conservateur. **LTXPC2, LTXPC3 (Contrôle Positif faible, Contrôle Positif) :** 2 flacons de 2 ml de contrôle positif faible et positif contenant des IgG anti-Toxoplasme dans du sérum humain, avec conservateur. Stable à +2/ +8 °C pendant 14 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.
L2KTXP2 : 1 jeu.

Le logiciel de l' IMMULITE 2000 réalise automatiquement les dilutions à bord des échantillons de contrôles, les résultats sont alors importés dans la base de données QC. Entrer les contrôles (comme des contrôles).

Se reporter à la fiche technique du contrôle pour les concentrations.

Diluant IgG/IgM (L2IGZ2)
Pour la dilution par l'appareil des échantillons cliniques et des contrôles. 55 ml concentré prêt à l'emploi, matrice tampon/protéines non-humaines avec conservateur. Stable à +2/ +8 °C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20 °C.
L2KTXP2 : 1 flacon.

Les étiquttes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 × 100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2KTXP2: 3 étiquettes.

Composants du coffret fournis séparément

Diluant IgG/IgM (L2IGZ2)
Pour la dilution par l'appareil des échantillons cliniques et des contrôles. 55 ml concentré prêt à l'emploi, matrice tampon/protéines non-humaines avec conservateur. Stable à +2/ +8 °C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20 °C.
L2IGZ2: 1 flacon.

Les étiquttes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 × 100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.
L2IGZ2: 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 × 100 mm)
L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

LTXPCM: Contrôle Toxoplasmose IgG, à trois niveaux de concentration

Egalement requi
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 de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000.

Voir le Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000 pour : la préparation, le démarrage du système, la dilution, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé : 4 semaines.

Echantillons pour le contrôle de qualité : Utiliser les contrôles Toxoplasmose IgG fournis dans le coffret.

Les témoins positifs et négatif sont conçus pour détecter un défaut majeur du réactif. Le témoin positif fourni ne pourra pas garantir la précision du seuil.

En plus des contrôles fournis, les utilisateurs peuvent souhaiter passer des contrôles supplémentaires pour couvrir la partie supérieure du domaine de mesure. Ces contrôles supplémentaires peuvent être testés en accord avec les réglementations officielles ou des organismes accrédités.[11]

Il est également recommandé de tester périodiquement des échantillons positifs ou négatifs connus, pour contrôler l'exactitude du pipetage lors de l'étape de dilution.

Interprétation des résultats

Le test IMMULITE 2000 Toxoplasmose IgG quantitative est étalonné par rapport au standard de l'OMS (Troisième Préparation Internationale de Référence pour la Toxoplasmose). Le seuil du test est défini à partir d'échantillons positifs et négatifs représentatifs (confirmés par une méthode ELISA) en utilisant une courbe ROC (*Receiver Operating Characteristic)*.

Réactif: un résultat supérieur ou égal à 8 UI/ml indique une infection passée.

Non-réactif: un résultat inférieur à 6,5 UI/ml est considéré comme non-réactif. *(Les résultats inférieurs à 6,5 UI/ml doivent être rendus comme* Non-réactif *sans mentionner de concentration numérique)*.

Indéterminé: un résultat supérieur ou égal à 6,5 UI/ml et inférieur à 8 UI/ml est considéré comme indéterminé.

Les échantillons présentant une concentration en anticorps spécifiques supérieure à 250 UI/ml doivent être rendus comme supérieurs à 250 UI/ml. Pour obtenir une concentration précise pour ces échantillons, il est nécessaire de les diluer, dans le Diluant IMMULITE 2000 IgG/IgM, d'un facteur supplémentaire par rapport à l'autodilution habituelle au 1/21.

La présence d'anticorps IgG anti-*Toxoplasma gondii* indique une exposition antérieure du sujet au toxoplasme. Un échantillon unique peut être utilisé pour définir le statut sérologique d'un individu.

Un résultat « indéterminé » indique que l'échantillon contient un taux intermédiaire d'anticorps anti-*Toxoplasma gondii* : il doit donc être retesté. Les échantillons qui sont toujours considérés après retest comme indéterminés doivent être analysés par une autre méthode ou doivent amener au prélèvement d'un deuxième sérum dans un délai raisonnable (par exemple une semaine).

Il est recommandé de ne pas interpréter les résultats si les valeurs obtenues pour les contrôles négatif et positif sortent du domaine indiqué au chapitre « Contrôle de Qualité ».

La valeur des taux d'IgG obtenus ne peut être comparée à un titre en point final.

Les résultats d'anti-toxoplasma IgG trouvés pour un même échantillon peuvent varier en fonction des différentes techniques utilisées dans les coffrets des différents fabricants. Aussi est-il nécessaire que les résultats rendus par le laboratoire mentionnent : « Les résultats suivants ont été obtenus avec le test IMMULITE 2000 Toxoplasmose IgG quantitative EIA. Les résultats obtenus par des méthodes provenant d'autres fabricants ne peuvent pas être interchangés. »

Valeurs de référence

Les individus infectés par le toxoplasme peuvent au stade précoce de l'infection ne pas présenter de taux détectable d'anticorps spécifiques de type IgG. En cas de suspicion d'infection au stade précoce, il faudra impérativement effectuer un dosage IgM anti-*Toxoplasma gondii*. Les taux d'IgG commencent à augmenter une ou deux semaines après l'infection. Le pic est atteint en 6 à 8 semaines, puis le taux diminue progressivement pendant une période de plusieurs mois ou années. De faibles titres restent généralement mesurables toute la vie. Il n'y a pas de corrélation entre le titre d'anticorps et la sévérité de la pathologie.[2,4,6]

Utiliser ces valeurs à titre indicatif uniquement. Chaque laboratoire devra établir ses propres valeurs de référence.

Limites

L'utilisation du test IMMULITE 2000 Toxoplasmose IgG pour le diagnostic d'une infection récente en testant des sérums deux par deux n'a pas été validée.

Les résultats de ce test doivent être interprétés en fonction de l'histoire clinique et de la symptomatologie de chaque patient et d'autres résultats de laboratoire.

La présence d'anticorps de type IgG dans un seul échantillon n'est pas suffisante pour différencier une infection ancienne ou active. En cas de suspicion d'infection primaire ou active, il faut effectuer un dosage d'IgM anti-*Toxoplasma gondii*.

Pour mettre en évidence une séroconversion, un second échantillon sérique devra être prélevé trois ou quatre semaines après le prélèvement non-réactif de la phase aiguë, au cours de la phase de convalescence de l'infection. L'échantillon de phase aiguë doit être conservé et testé en parallèle avec l'échantillon de la phase de convalescence.

Les individus souffrant d'une infection sévère peuvent ne pas avoir de taux d'IgG détectable aux premiers stades de la maladie.

Les résultats de patients atteints par le virus HIV, sous traitement immunosuppresseur ou sujets à tout autre désordre entraînant une immunosuppression, doivent être interprétés avec précaution.

Les performances de ce test n'ont pas été validées chez les patients qui vont recevoir une transplantation, les nouveau-nés, les sang de cordon et les prélèvements autres que sériques.

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec les immunodosages in vitro. [Voir Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988:34:27-33.] Les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre des sérums rares et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en UI/ml. (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).

Domaine de mesure : 5–250 UI/ml. Standardisé par rapport à la Troisième Préparation de Référence International de l'OMS pour la Toxoplasmose.

Sensibilité analytique : ≤ 5,0 UI/ml.

Précision : Les échantillons ont été dosés en double essai lors de 40 séries soit un total de 80 résultats. (Voir le tableau « Precision ».)

Spécificité (réactions croisées): La spécificité du dosage a aussi été évaluée en testant 73 échantillons réactifs pour le *Mycoplasma pneumoniae*, la Syphilis, le Virus de la Varicelle et du Zona, le Parvovirus B19, le Cytomégalovirus, le Virus Epstein-Barr, l'HSV 1 et la rougeole. Les résultats obtenus avec les tests IMMULITE Toxoplasmose IgG quantitative et IMMULITE 2000 Toxoplasmose IgG quantitative sur ces échantillons donnent une concordance à 99% (72/73).

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 539 mg/dl.

Lipémie : La présence de triglycérides ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 3 000 mg/dl.

Autres types d'échantillons: pour estimer l'effet de l'utilisation de différents type d'échantillons, 15 volontaires ont été prélevés sur tubes secs, héparinés, EDTA et sur tubes vacutainer SST® Becton Dickinson. Des volumes équivalents des différents échantillons ont été surchargés avec des sérums contenant différentes concentrations d'IgG *Toxoplasma* et ont été dosés avec le kit Toxoplasmose IgG quantitative sur l'IMMULITE 2000.

(Hépariné) = 1,1 (Sérum) – 0,81 UI/ml
r = 0,985

(EDTA) = 1,0 (Sérum) + 1,4 UI/ml
r = 0,949

(SST) = 1,1 (tubes ordinaires) – 2,9 UI/ml
r = 0,915

Moyennes:
65 UI/ml (Sérum)
68 UI/ml (Hépariné)
67 UI/ml (EDTA)
66 UI/ml (SST)

Comparaison de méthodes 1 : le test a été comparé au test IMMULITE Toxoplasmose IgG quantitative sur 33 échantillons (dont les concentrations allaient d'environ 5 à 112 UI/ml. Voir graphique « Method Comparison 1 ».) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 1,0 (IML) + 2,0 UI/ml
r = 0,994

Moyennes :
30 UI/ml (IMMULITE 2000)
28 UI/ml (IMMULITE)

Comparaison de méthodes 2 : le test a été comparé au test IMMULITE Toxoplasmose IgG quantitative sur 40 échantillons (dont les concentrations allaient d'environ 5 à 162 UI/ml. Voir graphique « Method Comparison 2 ».) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 1,04 (IML) + 1,3 UI/ml
r = 0,963

Moyennes:
35 UI/ml (IMMULITE 2000)
33 UI/ml (IMMULITE)

Assistance technique

Contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

Le Système Qualité de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. est certifié ISO 13485.

Italiano

Toxoplasma Quantitativo IgG

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa degli anticorpi Anti-*Toxoplasma gondii* nel siero, quale ausilio nella determinazione dello stato sierologico vs.il *Toxoplasma gondii*.

Il kit non è stato approvato dalla FDA per lo screening dei donatori di sangue o di plasma.

Codice: **L2KTXP2** (200 test)

Codice del Test: **TXP**
Colore: **grigio chiaro**

Riassunto e spiegazione del Test

Il *Toxoplasma gondii* è un parassita intracellulare in grado di infettare la maggior parte dei mammiferi, inclusi gli esseri umani. L'organismo viene trasmesso attraverso ingestione di carne mal cotta. In tutto il mondo, dall'1 al 90% della popolazione può essere infettata;[7] negli Stati Uniti tra il 25 ed il 30% della popolazione adulta risulta infettata.[3] Mentre la toxoplasmosi si può manifestare in diverse forme, generalmente le infezioni non sono clinicamente evidenti, e le infezioni latenti possono persistere per tutta la vita.[2] I sintomi clinici conclamati sono simili alla mononucleosi infettiva, con linfoadenopatia, febbre, mal di testa, affaticamento ed a volte polmonite e miocardite.[6]

Come nel caso di altre infezioni latenti, l'infezione da toxoplasma acuta può rappresentare una minaccia grave per individui immunodepressi e per i neonati che contraggono l'infezione *in utero*. I pazienti immunodeppressi possono sviluppare l'encefalite, la miocardite o la polmonite.[3] Le infezioni congenite generalmente insorgono come consequenza dell'infezione materna asintomatica acuta. Questa infezione può dar luogo a nascita prematura, aborto spontaneo, o parto di feto morto.[4,6] I neonati possono manifestare corioretinite, idrocefalia, microcefalia, calcificazione

cerebrale e ritardo psicomotorio.[1] La maggior parte dei bambini che hanno contratto l'infezione in utero non mostreranno sintomi sino all'età adulta.[4]

La gestione della toxoplasmosi richiede il controllo sierologico degli individui infettati,[3] poiché l'organismo non può essere isolato in coltura diretta. I test quantitativi per la presenza degli anticorpi IgG anti-Toxoplasma possono essere utili per determinare un infezione precedente ed indicare la riattivazione dell'infezione. E' importante avere informazioni diagnostiche accurate, particolarmente durante la gravidanza, poiché il trattamento con spiramicina può ridurre i rischi per il feto.[5]

Principio del procedimento

Il kit IMMULITE 2000 Toxoplasma IgG Quantitativo è un dosaggio immunometrico sequenziale in chemiluminescenza amplificata dall'enzima in fase solida. La fase solida (biglia) è coattata con l'antigene *Toxoplasma gondii* (tachizoite ceppo RH da paeritoneo di topo), parzialmente purificato. La fase liquida è costituita da due reagenti: 1) tampone proteico e 2) anticorpo monoclonale di topo anti-IgG umane coniugato con fosfatasi alcalina (da intestino di vitello).

Nel primo ciclo, il campione del paziente diluito on-borad in automatico (1:20) e il tampone proteico sono incubati insieme con la biglia coattate per 30 minuti. Durante questa fase, gli anticorpi IgG specifici per *Toxoplasma gondii* nel campione si legano all'antigene *Toxoplasma gondii* inattivato sulla biglia. Il campione non legato viene poi rimosso per lavaggio centrifugo.

Nel secondo ciclo, l' anticorpo monoclonale di topo anti-IgG umane coniugato con l'enzima viene aggiunto alla cuvetta di reazione per una ulteriore incubazione di 30 minuti.L'anticorpo monoclonale di topo anti-IgG umane coniugato con fosfatasi alcalina si lega alle IgG immobilizzate per formare un immunocomplesso "sandwich". Il coniugato enzimatico non legato viene eliminato da lavaggi centrifughi. Infine, alla cuvetta di reazione contenente la biglia viene aggiunto il substrato chemiluminescente con generazione del segnale la cui intensità è proporzionale all'enzima legato.

Cicli d'incubazione: 2 × 30 minuti.
Tempo al Primo Risultato: 65 minuti.

Raccolta dei campioni

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

I campioni emolizzati possono essere indice di un trattamento non idoneo del campione prima dell'arrivo al laboratorio; per questo motivo, i risultati devono essere interpretati con prudenza.

I campioni che sono opaci o che hanno materiali particolati devono essere chiarificati da centrifuga a bassa velocità.

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 Toxoplasma Quantitativo IgG non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume richiesto: 10 µL di siero. Dopo la prediluizione automatica del campione, 10 µL vengono usati per l'immunodosaggio.

Fattore Automatico di Pre-Diluizione: 20.

Conservazione: 3 giorni a 2–8°C o 6 mesi a –20°C.[12]

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro.*

ATTENZIONE! POTENZIALE PERICOLO BIOLOGICO
Contiene materiale di origine umana. Ciascuna donazione di sangue o componenti ematici umani è stata testata con metodi approvati dalla FDA per rilevare la presenza di anticorpi al virus dell'immunodeficienza umana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2), nonché per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e gli anticorpi al virus dell'epatite C (HCV). I risultati del test sono stati negativi (non ripetutamente reattivi). Nessun test offre assicurazione completa che questi o altri agenti infettivi siano assenti; questo materiale va trattato utilizzando le corrette prassi di laboratorio e le precauzioni universali.[14-16]

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale portatore e trasmettitore di agenti patogeni.

Reagenti: Conservare a 2–8°C. Scartare in conformità alle leggi applicabili.

Seguire le precauzioni universali, e maneggiare tutti i componenti come se fossero capaci di trasmettere agenti infettivi. Sono stati analizzati i materiali di sorgente dal sangue umano e sono stati trovati non reattivi per sifilide; per anticorpi ad HIV 1 e 2; per l'antigeno superficiale dell'epatite B; e per anticorpi all'epatite C.

E' stata aggiunta Sodio Azide a concentrazioni inferiori a 0,1 g/dL come conservante. Al momento dell'eliminazione, irrorare con molta acqua per evitare la formazione di azidi metalliche potenzialmente esplosive nelle tubature di piombo e di rame.

Substrato chemiluminescente: Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce del sole diretta. (Vedere l'inserimento).

Acqua: Utilizzare acqua distillata o deionizzata.

La sferetta è coattata con un antigene toxoplasma *inattivato*. Comunque, è consigliabile essere prudenti durante la calibrazione e l'eliminazione dei materiali a causa della possibile presenza di un virus residuo.

I risultati anti-Toxoplasma IgG per un dato campione utilizzando dosaggi di produttori diversi possono variare a causa delle diverse metodologie utilizzate e della specificità dei reagenti. I risultati forniti dal laboratorio al medico devono includere quanto segue: “I seguenti risultati sono stati ottenuti con il kit IMMULITE 2000 Toxoplasma Quantitativo IgG EIA. I valori ottenuti con dosaggi di diversi produttori non sono interscambiabili".

Materiali Forniti

I componenti costituiscono un unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

Contenitore di Sferette Toxoplasma Quantitativo IgG (L2TXP12)
Con codice a barre. 200 biglie coattate con antigene *Toxoplasma gondii* inattivato e parzialmente purificato (tachizoiti ceppo RH da peritoneo di topo). Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KTXP2: 1 confezione.

Porta Reagente Toxoplasma IgG Quantitativo (L2TXPA2)
Con codice a barre. Due reagenti: 11,5 mL di un tampone a base proteica, con conservanti; 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con anticorpo monoclonale murino anti-IgG umane in un tampone con conservanti. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.
L2KTXP2: 1 Porta Reagente.

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 Toxoplasma IgG Quantitativo (LTXPL, LTXPH)
Due flaconi (Basso ed Alto), ciascuno con 4 mL di siero umano con IgG reattive anti-Toxoplasma, in un tampone, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, e per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KTXP2: 1 set.

Prima di eseguire i calibratori o i controlli ricalibrare collocare le etichette giuste sulle aliquote (fornite col kit) sulle provette

cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore.

Controlli Toxoplasma IgG (LTXPC1, LTXPC2, LTXPC3)
Tre flaconi (Negativo, Basso Positivo e Positivo) ciascuno con 2 mL. **LTXPC1 (Controllo negativo):** Un flacone contenente siero umano con IgG non reattive al toxoplasma, con conservanti. **LTXPC2**, **LTXPC3 (Controllo basso positivo, Controllo positivo):** Due flaconi contenenti siero umano con IgG reattive al toxoplasma, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 14 giorni dopo l'apertura o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KTXP2: 1 set.

Il software IMMULITE 2000 effettua diluizioni automatiche interne dei campioni e dei controlli, e i risultati vengono inseriti nel database CQ. Inserire i controlli come controlli.

Fare riferimento all'inserimento di controllo per i livelli della concentrazione.

Diluente IgG/IgM (L2IGZ2)
Per la diluizione automatica dei campioni dei pazienti e dei controlli. 55 mL, concentrato pronto all'uso, di matrice proteica non umana/tampone con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2KTXP2: 1 flaconi.

Vengono fornite Le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm cosicchè i codici a barre possano essere letti dal lettore interno
L2KTXP2: 3 etichette.

Componenti dei kit forniti separatamente

Diluente IgG/IgM (L2IGZ2)
Per la diluizione automatica dei campioni dei pazienti e dei controlli. 55 mL, concentrato pronto all'uso, di matrice proteica non umana/tampone con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.
L2IGZ2: 1 flaconi.

Vengono fornite Le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm cosicchè i codici a barre possano essere letti dal lettore interno.
L2IGZ2: 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 × 100 mm) per Diluente del Campione
L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluente del Campione

LTXPCM: Controllo Toxoplasma IgG a tre livelli

Materiali richiesti
Acqua distillata o deionizzata; provette di vetro.

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per: preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 4 settimane.

Campioni per il controllo della qualità: Utilizza i controlli forniti con il kit.

I controlli negativo e positivo servono a monitorare il mal funzionamento del reagente. Il controllo positivo fornito non assicura la precisione del cutoff.

Oltre ai controlli forniti, gli utilizzatori possono richiedere ulteriori controlli a coprire il range più elevato del dosaggio. Si possono testare altri controlli secondo le linee guida o secondo quanto previsto dagli enti locali, statali e/o federali o dalle organizzazioni accreditanti.[11]

Si consiglia di dosare periodicamente i campioni reattivi e non reattivi per assicurare l'accuratezza della dispensazione nella fase di diluizione.

Interpretazione dei risultati

Il dosaggio IMMULITE 2000 Toxoplasma IgG è standardizzato in conformità al Terzo Standard Internazionale per il siero anti-toxoplasma dell'Organizzazione Mondiale della Sanità. Il valore di cutoff del dosaggio è stato determinato da campioni rappresentativi negativi e positivi (confermato mediante il metodo ELISA) utilizzando la tecnica ROC (Receiver Operating Characteristic).

Reattivo: Un risultato maggiore o uguale a 8 IU/mL è indicativo di un'infezione passata.

Non reattivo: Un risultato inferiore a 6,5 IU/mL è considerato non reattivo*. I risultati inferiori a 6,5 IU/mL devono essere registrati solo come* non reattivi*, e nessuna concentrazione numerica deve essere registrata.*

Indeterminato : Un risultato maggiore o uguale a 6,5 IU/mL e minore di 8 IU/mL viene considerato indeterminato.

Campioni superiori a 250 IU/mL devono essere riportati come “superiori a 250 IU/mL". Campioni con un risultato superiore a 250 IU/mL se vengono dosati con una diluizione 1:21 richiesta, possono essere diluiti ulteriormente con il diluente IgG/IgM per campioni.

La presenza di anticorpi IgG anti-*Toxoplasma gondii* è indicativa di un'esposizione precedente all'organismo. Un singolo campione può essere utilizzato soltanto per stimare lo stato sierologico dell'individuo.

Un risultato “indeterminato" indica un livello intermedio di anticorpi anti-*Toxoplasma gondii* nel campione; per questo motivo, il campione deve essere dosato di nuovo. I campioni che presentano risultati “indeterminati” devono essere analizzati mediante un metodo alternativo, o, se possibile, occorre prelevare un secondo campione entro un periodo ragionevole (p.e. una settimana).

Non si consiglia l'interpretazione dei risultati se il controllo positivo o negativo non rientra nel range specificato nella sezione “Controllo di Qualità”.

L'ordine di grandezza del livello IgG registrato non presenta correlazioni con il titolo finale.

I risultati comunicati dal laboratorio al medico devono includere quanto segue: “I seguenti risultati sono stati ottenuti con il kit IMMULITE 2000 Toxoplasma Quantitativo IgG EIA. I valori ottenuti con dosaggi di diversi produttori non sono interscambiabili".

Valori Attesi

E' possibile che individui infettati dal toxoplasma non mostrino livelli rilevabili di anticorpi IgG nelle prime fasi dell'infezione. I livelli di anticorpi IgG anti-*toxoplasma gondii* cominciano ad aumentare uno – due settimane dopo l'infezione. I livelli raggiungono il punto massimo in 6 – 8 settimane, poi diminuiscono gradualmente durante un periodo di mesi o anche anni. Generalmente, i titoli bassi sono rilevabili per tutta la vita. Il titolo anticorpale non ha correlazioni con la gravità della malattia.[2,4,6]

Questi valori dovrebbero essere considerati solo come *suggerimento*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

Limiti

L'utilizzo del dosaggio IMMULITE 2000 Toxoplasma IgG Quantitativo per diagnosticare un'infezione recente mediante il dosaggio di coppie di campioni di siero non è stato ancora validato.

I risultati del dosaggio devono essere considerati nel contesto della storia clinica e della sintomologia del paziente e di altre informazioni fornite dal laboratorio.

La presenza degli anticorpi IgG in un singolo campione non è sufficiente per distinguere tra un'infezione attiva ed un'infezione precedente. I pazienti che eventualmente hanno un'infezione iniziale o un'infezione attiva devono essere testati per la presenza degli anticorpi IgM anti-*Toxoplasma gondii*.

Per la determinazione della sieroconversione da non reattivo a reattivo, è consigliabile prelevare un secondo campione di siero tre o quattro settimane dopo il campione acuto e non reattivo, durante la fase di convalescenza dall'infezione. Il campione della fase acuta deve essere conservato ed analizzato in

parallelo con il campione della fase di convalescenza.

E' possibile che individui con un'infezione acuta da toxoplasma non mostrino anticorpi IgG rilevabili durante la prima fase dell'infezione.

I risultati per pazienti affetti da HIV, per pazienti sottoposti ad una terapia immunosoppressiva, o in pazienti con malattie che portano alla immunosoppressione devono essere interpretati con prudenza.

Le caratteristiche di questo dosaggio non ne consentono l'utilizzo con campioni di neonati, sangue del cordone ombelicale, pazienti pretrapianto, o fluidi corporei diversi dal siero, come urina, saliva o liquido amniotico.

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi in vitro. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988:34:27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedi tavole e grafici per dati *rappresentativi*. I risultati sono indicati in IU/mL. (Laddove non diversamente specificato, tutti i dati sono stati generati su campioni di siero raccolti in provette senza gel separatore o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.)

Range di Riferimento: 5–250 IU/mL. Standardizzata in conformità al WHO 3rd IS per il siero umano anti-toxoplasma.

Sensibilità Analitica: ≤ 5,0 IU/mL

Precisione: I campioni sono stati dosati in duplicato in 40 sedute per un totale di 80 replicati. (Vedi tabella "Precision".)

Specificità: La specificità del dosaggio IMMULITE 2000 Toxoplasma IgG Quantitativo è stata valutata testando 73 campioni reattivi per il citomegalovirus (CMV), per il virus della varicella-zoster (VZV), per il virus dell'Epstein-Barr (EBV), per il *Mycoplasma pneumoniae*, per la Sifilide, e per il parvovirus B19, per l'HSV 1 e per il morbillo. Con questi campioni, il dosaggio IMMULITE 2000 Toxoplasma IgG Quantitativo ed il dosaggio IMMULITE Toxoplasma IgG Quantitativo hanno presentato una correlazione del 99% (72/73).

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 539 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.

Tipo di Campione Alternativo: Per determinare l'effetto di campioni alternativi, è stato prelevato del sangue da 15 volontari in provette semplici, eparinizzate, EDTA e Becton Dickinson vacutainer SST®. Ad uguali volumi di questi campioni misti sono stati aggiunti a vari livelli sieri contenenti anticorpi IgG *Toxoplasma* e quindi sono stati dosati con il dosaggio IMMULITE 2000 Toxoplasma Quantitativo IgG.

(Eparina) = 1,1 (Siero) – 0,81 IU/mL
r = 0,985

(EDTA) = 1,0 (Siero) + 1,4 IU/mL
r = 0,949

(SST) = 1,1 (tubi semplici) – 2,9 IU/mL
r = 0,915

Valore medio:
65 IU/mL (Siero)
68 IU/mL (Eparina)
67 IU/mL (EDTA)
66 IU/mL (SST)

Confronto fra Metodi 1: Il dosaggio è stato confrontato al dosaggio IMMULITE Toxoplasma IgG Quantitativo su 33 campioni di pazienti. (Range di concentrazione: da 5 a 112 IU/mL circa. Vedere il grafico "Method Comparison 1".) Mediante regressione lineare:

(IML 2000) = 1,0 (IML) + 2,0 IU/mL
r = 0,994

Valore Medio:
30 IU/mL (IMMULITE 2000)
28 IU/mL (IMMULITE)

Confronto fra Metodi 2: Il dosaggio è stato confrontato al dosaggio IMMULITE Toxoplasma IgG Quantitativo su 40 campioni di pazienti. (Range di concentrazione: da 5 a 162 IU/mL circa. Vedere il grafico "Method Comparison 2".) Mediante regressione lineare:

(IML 2000) = 1,04 (IML) + 1,3 IU/mL
r = 0,963

Valore Medio:
35 IU/mL (IMMULITE 2000)
33 IU/mL (IMMULITE)

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore Nazionale.

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

Toxoplasma Quantitativa IgG

Utilização: Para uso diagnóstico *in vitro* com os Analisadores dos Sistemas IMMULITE 2000 — para a detecção quantitativa de anticorpos IgG para o *Toxoplasma gondii* (toxoplasma) no soro humano. O seu uso é restrito ao uso *in vitro* como auxiliar na determinação do estado serológico do *Toxoplasma gondii.*

> Este kit não é aprovado pela FDA (Administração dos alimentos e das Drogas) para uso no teste sanguíneo (ou seja triagem) ou doadores de plasma.

Números de catálogo: **L2KTXP2** (200 testes)

Código do teste: **TXP**
Cor: **Cinzento claro**

Sumário e explicação do teste

O Toxoplasma gondii é um parasita intracelular sem via alternativa capaz de infectar a maioria dos mamíferos, incluindo humanos. O organismo é transmitido através de ingestão de carne insuficientemente cozinhada. Em todo o mundo, de 1 a 90 porcento da população pode estar infectada,[7] com 25 a 30 porcento da população adulta infectada nos EUA.[3] Enquanto a toxoplasmose pode manifestar-se de várias formas, as infecções são geralmente clinicamente inaparentes, e infecções latentes normalmente persistem por toda a vida.[2] Sintomas clínicos evidentes são similares aos da mononucleose infecciosa, com linfodenopatia, febre, dor de cabeça, mal estar e por vezes pneumonia e miocardite.[6]

Como em outras infecções latentes, a infecção de toxoplasmose aguda pode apresentar uma séria ameaça a indivíduos imunocomprometidos e recém-nascidos que adquirem a infecção no útero. Doentes imunosuprimidos podem desenvolver encefalite, miocardite ou pneumonia.[3] Infecções congénitas normalmente resultam como consequência da infecção materna aguda assintomática. Esta infecção pode causar parto prematuro, aborto espontâneo ou nascimento de feto morto.[4,6] Recém-nascidos podem manifestar coriorretinite, hidrocefalia, microcefalia, calcificação cerebral e retardamento psicomotor.[1] A maioria das crianças infectadas congenitamente não exibem nenhum sintoma até à idade adulta.[4]

O tratamento da toxoplasmose requer monitorização serológica dos indivíduos infectados,[3] pela dificuldade de fazer a cultura do organismo. Testes quantitativos para a presença de toxoplasma IgG podem ser úteis para determinar uma infecção anterior e indicar a reactivação da infecção. É importante uma informação diagnóstica precisa, especialmente durante a gestação, já que o tratamento com espiramicina pode reduzir o risco para o feto.[5]

Princípio do Procedimento

IMMULITE 2000 Toxoplasma IgG Quantitativo é um ensaio imunométrico de fase sólida, por quimioluminescencia marcado enzimáticamente. A fase sólida (esfera) está revestida com antigénio de To*xoplasma gondii* (estirpe RH de taquizoíto de peritoneu de rato). A fase líquida consiste em dois reagentes: 1) tampão de base proteica e 2) fosfatase alcalina (intestino de vitela) conjugada com anticorpo monoclonal de murino anti-IgG humana.

No primeiro ciclo, a amostra do doente diluida a bordo do aparelho (1-para-20) e o tampão são incubados conjuntamente com a esfera revestida durante 30 minutos. Durante este período, o anticorpo IgG específico para o *Toxoplasma gondii* presente na amostra liga-se ao antigénio inactivado de *Toxoplasma gondii* da esfera. A amostra que não se liga é removida por lavagem.

No segundo ciclo, o enzima conjugado com anticorpo monoclonal de murino anti-IgG humana é adicionado à unidade de teste para mais 30 minutos de incubação. O enzima conjugado com anticorpo monoclonal de murino anti-IgG humana liga-se á IgG imobilizada formando um complexo de sandwich. O enzima conjugado que não se ligou é removido por lavagem. Finalmente o substrato de quimioluminescência é adicionado à unidade de teste que contem a esfera e o sinal é gerado proporcionalmente ao enzima ligado.

Ciclos de incubação: 2 × 30 minutos.
Tempo para o Primeiro Resultado: 65 minutos.

Colheita

Recomenda-se o uso de uma ultra centrífuga para clarear amostras lipémicas.

Amostras hemolisadas podem indicar tratamento incorrecto de um espécime antes do envio para o laboratório; portanto os resultados devem ser interpretados com cuidado.

Amostras que estiverem turvas ou possuírem material em partículas devem ser clarificadas através de centrifugação de baixa velocidade.

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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 Toxoplasma Quantitativa IgG não foram ainda testados com todas as possiveis 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: 10 µL de soro. Após a prediluição automática, 10 µL são usados para o imunoensaio.

Factor de pré-diluição automática: 20.

Estabilidade: 3 dias a 2–8°C, ou 6 meses a –20°C.[12]

Precauções

Para uso de diagnóstico in vitro.



PRECAUÇÃO! POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO
Contém material de origem humana. Cada dádiva de sangue ou componente de sangue humano foi testada pelos métodos aprovados pela FDA quanto à presença de anticorpos dos vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e tipo 2 (VIH-2), bem como do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e dos anticorpos do vírus da hepatite C (VHC). Os resultados dos testes foram negativos (não repetidamente reativos). Nenhum teste oferece total garantia de que estes ou outros agentes infeciosos estejam ausentes; este material deve ser manuseado de acordo com as boas práticas laboratoriais e precauções universais.[14-16]

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.

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.

A esfera é revestida com antigénio de Toxoplasma inactivado. Contudo, deve-se ter cuidado ao trabalhar, ou rejeitar os materiais que são fornecidos, devido à possível presença residual do parasita.

Os resultados anti-Toxoplasma IgG determinados para uma amostra específica com doseamentos de diferentes fabricantes podem variar devido à diferença no método de doseamento e especificidade do reagente. Os resultados reportados pelo laboratório ao médico devem incluir: “Os seguintes resultados foram obtidos com o IMMULITE 2000 EIA IgG Quantitativa de Toxoplasma. Os resultados obtidos por métodos de doseamentos de outros fabricantes não podem ser comparados"

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 esferas de Toxoplasma Quantitativa IgG (L2TXP12)
Com código de barras. 200 esferas revestidas com antigénios de *toxoplasma gondii*, inactivados, parcialmente purificados (cadeia RH taquizoite inactivada de peritoneu de rato). Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KTXP2: 1 embalagem.

Embalagem de Reagente de Toxoplasma Quantitativa IgG (L2TXPA2)
Com código de barras. Dois Reagentes: 11,5 mL de tampão de base em proteica, com conservante; 11,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugada com anticorpo monoclonal IgG anti humano de murino em tampão com conservante. Estável até à data de validade a 2–8°C.
L2KTXP2: 1 embalagem.

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 Toxoplasma Quantitativa IgG (LTXPL, LTXPH)
Contém dois frascos (nível alto e baixo) cada um contendo 4 mL de soro humano com IgG reactivo ao toxoplasma, tamponizado, com conservante. Estável por 30 dias após aberto a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KTXP2: 1 conjunto.

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas de alíquota apropriadas (fornecidas com o "kit") em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Controlos de Toxoplasma IgG (LTXPC1, LTXPC2, LTXPC3)
Três frascos (Negativo, Positivo Baixo e Positivo) cada um contendo 2 mL.
LTXPC1 (Controlo Negativo): Um frasco com soro humano com IgG não reactivo ao toxoplasma, com conservante. **LTXPC2, LTXPC3 (Controlo Positivo Baixo, Controlo Positivo):** Dois frascos com soro humano com IgG reactivo ao

toxoplasma, com conservante. Estável por 14 dias após aberto a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KTXP2: 1 conjunto.

O software do IMMULITE 2000 permite a auto-diluição de amostras de controlo, e os resultados serão localizados na base de dados do CQ. Introduzir os controlos como controlos.

Refira-se à literatura inserida para os níveis de concentração.

Diluente de amostra para IgG/IgM (L2IGZ2)
Para a diluição no aparelho de amostras de doentes e controlos. 55 mL concentrado pronto a usar, matriz protéica tamponizada de origem não humana, com conservante. Estável por 30 dias após aberto a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2KTXP2: 1 frasco.

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2KTXP2: 3 etiquetas.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Diluente de amostra para IgG/IgM (L2IGZ2)
Para a diluição no aparelho de amostras de doentes e controlos. 55 mL concentrado pronto a usar, matriz protéica tamponizada de origem não humana, com conservante. Estável por 30 dias após aberto a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.
L2IGZ2: 1 frasco.

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2IGZ2: 5 etiquetas.

L2SUBM: Substrato quiomioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Kit de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)
L2ZT: 250 Tubos de diluente da amostra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

LTXPCM: Módulo de Controlo de Toxoplasma IgG de três níveis

Também necessário
Água destilada ou desionizada; tubos de amostra.

Procedimento do doseamento

Ter em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000.

Consultar o Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000 relativamente aos procedimentos de preparação, diluição, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável: 4 semanas.

Amostras de controlo de qualidade: Utilize os controlos fornecidos com o kit.

Os controlos positivo e negativo servem para monitorizar falhas substanciais do reagente. O controlo positivo fornecido não assegura a precisão do cut-off.

Além dos controlos fornecidos, os utilizadores podem desejar executar controlos adicionais para abranger os valores superiores do doseamento. Controlos adicionais podem ser testados de acordo com as directrizes ou requisitos das regulamentações locais, estaduais e/ou federais, ou das organizações acreditadas.[11]

Recomenda-se também que as amostras reactivas e não reactivas conhecidas sejam testadas periódicamente para assegurar a exactidão da pipetagem e pré- diluição.

Interpretação dos Resultados

O doseamento IgG Quantitativa de Toxoplasma IMMULITE 2000 é padronizado em termos do Terceiro Padrão Internacional da Organização Mundial de Saúde para soro humano anti-toxoplasma. O Cutoff do doseamento foi determinado com amostras

representativas, positivas e negativas (confirmado por um método ELISA) usando a técnica ROC (Receiver Operating Characteristics).

Reativo: Um resultado superior ou igual a 8 IU/mL indica uma infecção anterior.

Não reativo: Um resultado inferior a 6,5 IU/mL é considerado como "não reativo." *Resultados inferiores a 6,5 IU/mL devem ser referidos apenas como* Não reativo*, e nenhuma concentração numérica deve ser referida.*

Indeterminado: Um resultado superior ou igual a 6,5 IU/mL e inferior a 8 IU/mL é considerado *indeterminado*.

Amostras com resultados superiores a 250 IU/mL devem ser referidas como "superior a 250 IU/mL ". Amostras com resultado superior a 250 IU/mL, quando testados na auto-diluição requerida de 1-para-21, podem ser ainda mais diluídos com o Diluente de Amostras IgG/IgM IMMULITE 2000.

A presença de anticorpos IgG do *Toxoplasma gondii* é uma indicação de exposição anterior ao organismo. Uma única amostra pode ser usada para avaliar o estado serológico do indivíduo.

Um resultado *"indeterminado*" indica um nível intermédio de anticorpos para o *Toxoplasma gondii* na amostra, portanto, a amostra deve ser testada novamente. Amostras que apresentem novamente um resultado "*indeterminado*" devem ser examinadas por um método alternativo, ou deve-se colher uma segunda amostra, se possível, dentro de um período razoável de tempo (por exemplo, uma semana).

Qualquer interpretação dos resultados não é recomendada se o controlo positivo ou negativo estiver fora dos valores especificados na secção de Controlo de Qualidade.

O nível de IgG não pode ser correlacionada com um título de ponto final.

Os resultados reportados pelo laboratório ao médico devem incluir: “Os seguintes resultados foram obtidos com IMMULITE 2000 EIA IgG Quantitativa de Toxoplasma." Os resultados obtidos com métodos de doseamento de outros fabricantes não podem ser comparados.

Valores de Referência

Indivíduos com o organismo toxoplasma podem não exibir níveis detectáveis do anticorpo IgG na fase precoce da infecção. Níveis do anticorpo IgG para o *Toxoplasma gondii* começam a aumentar uma ou duas semanas após a infecção. Níveis máximos são alcançados em 6 a 8 semanas, e em seguida decrescem gradualmente no decorrer dos meses ou até anos. Niveis baixos são geralmente detectáveis toda a vida. O grau de anticorpo não é correlacionavel com a severidade da doença.[2,4,6]

Estes valores devem ser considerados apenas como directrizes. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores.

Limitações

O uso de IgG Quantitativa de Toxoplasma IMMULITE 2000 para diagnosticar uma infecção recente testando pares de soros, ainda não foi validado.

Os resultados do teste devem ser observados dentro do contexto da história clínica do doente, sintomatologia e outros resultados laboratoriais.

A presença dos anticorpos IgG numa única amostra não é suficiente para distinguir entre uma infecção activa ou prévia. Os doentes suspeitos de ter infecção primária ou activa devem ser testados para a presença do anticorpos IgM para o *Toxoplasma gondii*.

Para a determinação da seroconversão de não reativo a reativo, uma segunda amostra de soro deve ser colhida 3 ou 4 semanas após a amostra da fase aguda e não reactiva, durante o período de convalescença da infecção. A amostra da fase aguda deve ser armazenada e testada em paralelo com a amostra da fase de convalescença.

Indivíduos com infecção aguda por toxoplasma podem não exibir quaisquer anticorpos IgG detectáveis na fase precoce da infecção.

Os resultados em doentes de HIV, em doentes em terapia imunosupressora, ou em doentes com outras doenças que levam à imunosupressão, devem ser interpretados com cuidado.

As características do desempenho deste doseamento não foram estabelecidas para uso com amostras neonatais, sangue do cordão, ou doentes de pré-transplante ou outros fluidos corporais além de soro, tais como urina, saliva ou líquido amniótico.

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 do desempenho do doseamento. Os resultados são apresentados em IU/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.

Zona de Trabalho: 5–250 IU/mL. padronizado de acordo com o Terceiro IS da OMS para Soro Anti-Toxoplasma, Humano.

Sensibilidade Analítica: ≤ 5,0 IU/mL.

Precisão: Amostras foram ensaiadas em duplicado 40 vezes num total de 80 réplicas. (Consulte a tabela “Precision.”)

Especificidade: A especificidade do ensaio de IMMULITE 2000 Toxoplasma Quantitative IgG foi avaliada testando 73 amostras reativas para o citomegalovirus (CMV), varicella-zoster virus (VZV), Epstein-Barr virus (EBV), *Mycoplasma pneumoniae* and parvovirus B19. Com estas amostras, o IMMULITE 2000 Toxoplasma Quantitativa IgG e um imunoensaio enzimático comercial para Toxoplasma IgG (Kit D) mostraram uma correlacção de 99%. (72/73).

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.

Hemolise: A presença de hemoglobina em concentrações até 539 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipémia: A presença de trigliceridos iem concentrações até 3 000 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Tipo de amostra alternativa: Para determinar o efeito de amostras alternatives, foi colhido sangue de 15 voluntários em tubos secos, com EDTA, heparinizados e tubos de vacum SST® da Becton Dickinson. Iguais volumes das amostras foram adicionados com vários niveis de soro com anticorpos IgG para a *Toxoplasma*, e ensaiados pelo IMMULITE 2000 Toxoplasma Quantitativa IgG.

(Heparina) = 1,1 (Soro) – 0,81 IU/mL
r = 0,985

(EDTA) = 1,0 (Soro) + 1,4 IU/mL
r = 0,949

(SST) = 1,1 (tubos simples) – 2,9 IU/mL
r = 0,915

Médias:
65 IU/mL (Soro)
68 IU/mL (Heparina)
67 IU/mL (EDTA)
66 IU/mL (SST)

Comparação de Métodos 1: O doseamento foi comparado ao Toxoplasma Quantitativa IgG IMMULITE em 33 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 5 a 112 IU/mL. Consulte o gráfico “Method Comparison 1”.) Regressão linear:

(IML 2000) = 1,0 (IML) + 2,0 IU/mL
r = 0,994

Médias:
30 IU/mL (IMMULITE 2000)
28 IU/mL (IMMULITE)

Comparação de Métodos 2: O doseamento foi comparado ao Toxoplasma Quantitativa IgG IMMULITE em 40 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 5 a 162 IU/mL. Consulte o gráfico “Method Comparison 2”.) Regressão linear:

(IML 2000) = 1,04 (IML) + 1,3 IU/mL
r = 0,963

Médias:
35 IU/mL (IMMULITE 2000)
33 IU/mL (IMMULITE)

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE® is a trademark of Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2009 Siemens Healthcare Diagnostics. All rights reserved.

Made in: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

CE
0197

2019-07-16

PIL2KTXP – 25

cc#EU23606, cc#EU23606A

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol Definition

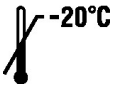
IVD
En: In vitro diagnostic medical device
De: Medizinisches Gerät zur In-vitro Diagnose
Es: Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
Fr: Dispositif médical de diagnostic in vitro
It: Dispositivo medico per diagnostica in vitro
Pt: Dispositivo médico para diagnóstico in vitro

REF
En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo

En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante

EC REP
En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l’Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia

CE
En: CE Mark
De: CE-Kennzeichen
Es: Marca CE
Fr: Marque CE
It: Marchio CE
Pt: Marca CE

Symbol	Definition
CE XXXX	**En:** CE Mark with identification number of notified body **De:** CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle **Es:** Marca CE con número de identificación del organismo notificado **Fr:** Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié **It:** Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato **Pt:** Marca CE, com número de identificação do organismo notificado
	**En:** Consult instructions for use **De:** Bedienungshinweise beachten **Es:** Consulte las instrucciones de uso **Fr:** Consulter le mode d'emploi **It:** Consultare le istruzioni per l'uso **Pt:** Consulte as instruções de utilização
	**En:** Caution! Potential Biohazard **De:** Vorsicht! Biologisches Risikomaterial **Es:** ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial **Fr:** Avertissement ! Risque biologique potentiel **It:** Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico **Pt:** Atenção! Potenciais Riscos Biológicos
	**En:** Temperature limitation (2–8°C) **De:** Temperaturgrenze (2–8°C) **Es:** Limitación de temperatura (2–8°C) **Fr:** Limites de température (2–8°C) **It:** Limiti di temperatura (2–8°C) **Pt:** Limites de temperatura (2–8°C)
	**En:** Upper limit of temperature (≤ -20°C) **De:** Obere Temperaturgrenze (≤ -20°C) **Es:** Límite superior de temperatura (≤ -20°C) **Fr:** Limite supérieure de température (≤ -20°C) **It:** Limite superiore di temperatura (≤ -20°C) **Pt:** Limite máximo de temperatura (≤ -20°C)

Symbol	Definition
	**En:** Lower limit of temperature (≥2°C) **De:** Mindesttemperatur (≥2°C) **Es:** Límite inferior de temperatura (≥2°C) **Fr:** Limite inférieure de température (≥2°C) **It:** Limite inferiore di temperatura (□≥2°C) **Pt:** Limite mínimo de temperatura (≥2°C)
	**En:** Do not freeze (> 0°C) **De:** Nicht einfrieren (> 0°C) **Es:** No congelar (> 0°C) **Fr:** Ne pas congeler (> 0°C) **It:** Non congelare (> 0°C) **Pt:** Não congelar (> 0°C)
	**En:** Do not reuse **De:** Nicht zur Wiederverwendung **Es:** No reutilizar **Fr:** Ne pas réutiliser **It:** Non riutilizzare **Pt:** Não reutilizar
	**En:** Keep away from sunlight **De:** Vor Sonneneinstrahlung schützen **Es:** Proteger de la luz solar **Fr:** Maintenir hors de portée de la lumière du soleil **It:** Non esporre alla luce del sole **Pt:** Manter afastado da luz solar
	**En:** Batch code **De:** Chargenbezeichnung **Es:** Número de lote **Fr:** Numéro de code du lot **It:** Codice lotto **Pt:** Código de lote
	**En:** Contains sufficient for (n) tests **De:** Es reicht für (n) Tests **Es:** Contiene suficiente para (n) pruebas **Fr:** Contient du matériel suffisant pour (n) tests **It:** Contiene materiale sufficiente per (n) test **Pt:** Contém o suficiente para (n) testes
2008-01	**En:** Date format (year-month) **De:** Datumsformat (Jahr-Monat) **Es:** Formato de fecha (año-mes) **Fr:** Format de la date (année-mois) **It:** Formato data (anno-mese) **Pt:** Formato de data (ano-mês)

Symbol Definition



En: Use by
De: Verwendbar bis
Es: Fecha de caducidad
Fr: A utiliser avant
It: Usare entro
Pt: Usar até



En: Health Hazard
De: Gesundheitsgefährdung
Es: Peligro para la salud
Fr: Dangereux pour la santé
It: Pericolo per la salute
Pt: Perigo para a saúde



En: Exclamation Mark
De: Ausrufezeichen
Es: Signo de exclamación
Fr: Point d'exclamation
It: Punto esclamativo
Pt: Ponto de exclamação



En: Corrosion
De: Korrosion
Es: Corrosión
Fr: Corrosion
It: Corrosione
Pt: Corrosão



En: Skull and Crossbones
De: Totenkopf mit gekreuzten Knochen
Es: Calavera y tibias cruzadas
Fr: Tête de mort sur tibias croisés
It: Teschio e tibie incrociate
Pt: Caveira sobre tíbias cruzadas



En: Environment
De: Umwelt
Es: Medio ambiente
Fr: Environnement
It: Ambiente
Pt: Ambiente

BEAD PACK

En: Bead Pack
De: Kugel-Container
Es: Cartucho de bolas
Fr: Cartouche de billes
It: Contenitore di biglie
Pt: Embalagem de esferas

TEST UNIT

En: Test Unit
De: Testeinheit
Es: Unidades de análisis
Fr: Unité de test
It: Test Unit
Pt: Unidades de Teste

REAG WEDGE
REAG WEDGE A
REAG WEDGE B
REAG WEDGE D

En: Reagent Wedge
De: Reagenzbehälter
Es: Vial de reactivo
Fr: Cartouche à réactif
It: Porta Reagente
Pt: Embalagem de Reagente

ADJUSTOR

En: Adjustor
De: Kalibrator
Es: Ajustador
Fr: Ajusteur
It: Calibrator
Pt: Ajuste

ADJUSTOR L

En: Adjustor, low
De: Kalibrator, niedrig
Es: Ajustador, bajo
Fr: Ajusteur, bas
It: Calibrator, basso
Pt: Ajuste, baixo

ADJUSTOR H

En: Adjustor, high
De: Kalibrator, hoch
Es: Ajustador, alto
Fr: Ajusteur, haut
It: Calibrator, alto
Pt: Ajuste, alto

ADJUSTOR AB

En: Adjustor Antibody
De: Kalibrator Antikörper
Es: Anticuerpo Ajustador
Fr: Anticorps de l'Ajusteur
It: Anticorpo del Calibratore
Pt: Anticorpo do Ajuste

DIL

En: Sample Diluent
De: Proben-verdünnungsreagenz
Es: Diluyente para muestras
Fr: Diluant échantillon
It: Diluente per Campioni
Pt: Diluente de Amostra

CONTROL
CONTROL 1
CONTROL 2
CONTROL 3

En: Control
De: Kontrolle
Es: Control
Fr: Contrôle
It: Controllo
Pt: Controlo

CONTROL +

En: Positive Control
De: Positivkontrolle
Es: Control Positivo
Fr: Contrôle positif
It: Controllo positivo
Pt: Controlo Positivo

CONTROL + L

En: Low Positive Control
De: Schwachpositiv-kontrolle
Es: Control Positivo bajo
Fr: Contrôle positif faible
It: Controllo Positivo Basso
Pt: Controlo Positivo Baixo

CONTROL –

En: Negative Control
De: Negativkontrolle
Es: Control Negativo
Fr: Contrôle négatif
It: Controllo negativo
Pt: Controlo Negativo

CONTROL AB

En: Control Antibody
De: Kontroll-Antikörper
Es: Anticuerpo Control
Fr: Anticorps du contrôle
It: Anticorpo di Controllo
Pt: Anticorpo do Controlo

PRE A

PRE B

En: Pretreatment Solution
De: Vorbehandlungs-lösung
Es: Solución de Pretratamiento
Fr: Solution de prétraitement
It: Soluzione di pretrattamento
Pt: Solução de Pré-tratamento

DITHIOTHREITOL

En: Dithiothreitol Solution
De: Dithiothreitol-Lösung
Es: Solución de Ditiotreitol
Fr: Solution de Dithiothreitol
It: Soluzione di Ditiotreitolo
Pt: Solução de Ditiotreitol

BORATE-KCN BUF

En: Borate-KCN Buffer Solution
De: Borat-KCN-Puffer
Es: Solución Tampón Borato-KCN
Fr: Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium
It: Soluzione Tampone Borato-KCN
Pt: Solução Tamponizada de Borato-KCN

IMMULITE® 2000

Third Generation TSH

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 Third Generation TSH

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the quantitative measurement of thyrotropin (TSH) in serum. Measurements of thyroid stimulating hormone produced by the anterior pituitary are used in the diagnosis of thyroid or pituitary disorders.

Catalog Numbers:
L2KTS2 (200 tests)
L2KTS6 (600 tests)

Test Code: **TSH** Color: **Red**

Summary and Explanation

Thyroid stimulating hormone (thyrotropin, TSH) is a pituitary hormone which, through its action on the thyroid gland, plays a major role in maintaining normal circulating levels of the iodothyronines, T4 and T3. TSH is controlled by negative feedback from circulating T4 and T3, and by the hypothalamic hormone TRH (thyrotropin releasing hormone). TSH exhibits a small circadian rhythm.

In primary hypothyroidism, where there is impaired production of thyroid hormones, the TSH level is typically highly elevated. In secondary or tertiary hypothyroidism, on the other hand, where thyroid hormone production is low as a consequence of pituitary or hypothalamic lesions, the TSH level is usually low. In hyperthyroidism, the TSH level is typically suppressed to subnormal levels. Less often, this condition may result from hyperstimulation of the thyroid, due to hypothalamic or pituitary lesions, in which case the TSH level is usually increased.

Measurement of circulating TSH has been used as a primary test for differential diagnosis of hypothyroidism and as an aid in monitoring the adequacy of thyroid hormone replacement therapy. It should be remembered that hyperthyroidism and hypothyroidism are graded conditions. This implies that not all patients in these disease categories can be expected to have TSH levels far outside the euthyroid range. On the other hand, TSH levels exit the euthyroid reference range in the very early phases of developing thyroid disease, while the patient's disease is still subclinical and thyroid hormone levels remain within their euthyroid reference ranges.

Research studies have found that the apparently healthy patients with TSH > 2.0 µIU/mL have increased risk to develop thyroid diseases in the next 20 years. It has been suggested that it is likely that the upper limit of the serum TSH euthyroid reference range will be reduced to 2.5 µIU/mL because > 95% of rigorously screened normal euthyroid volunteers have serum TSH values between 0.4 and 2.5 µIU/mL.[7]

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 Third Generation TSH is a solid-phase, two-site chemiluminescent immunometric assay.

Incubation Cycles: 1 × 60 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.

EDTA plasma should not be used as a sample type.

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 Third Generation TSH 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: 75 µL serum

Storage: 5 days at 2–8°C, or 1 month at –20°C.[1]

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.



CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD
Contains human source material. Each donation of human blood or blood component was tested by FDA-approved methods for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) as well as for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis C virus (HCV). The test results were negative (not repeatedly reactive). No test offers complete assurance that these or other infectious agents are absent; this material should be handled using good laboratory practices and universal precautions.[8-10]

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.

H412 **P273, P501**	Harmful to aquatic life with long lasting effects. Avoid release to the environment. Dispose of contents and container in accordance with all local, regional, and national regulations. **Contains:** 2-methyl-2H-isothiazol-3-one; TSH Adjustors

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.

TSH Bead Pack (L2TS12)
With barcode. 200 beads, coated with monoclonal murine anti-TSH antibody. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KTS2: 1 pack
L2KTS6: 3 packs

TSH Reagent Wedge (L2TSA2)
With barcode. 23 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to polyclonal goat anti-TSH antibody in buffer (with preservative), dispensed equally into chambers A and B. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KTS2: 1 wedge
L2KTS6: 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.

TSH Adjustors (LTSL, LTSH)
Two vials (Low and High) of lyophilized human TSH in a serum/buffer matrix. Reconstitute each vial with **4.0 mL** distilled or deionized water. Let stand for 30 minutes, then mix by *gentle* swirling or inversion. Stable at 2–8°C for 30 days, after reconstitution, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

L2KTS2: 1 set
L2KTS6: 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

TSH Sample Diluent (L2TSZ)
For on-board dilution of high samples. 25 mL of concentrated (ready-to-use) TSH-free serum/buffer matrix. 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 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.
L2TSZ: 3 labels

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate
L2PWSM: Probe Wash
L2KPM: Probe Cleaning Kit
LRXT: Reaction Tubes (disposable)
L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

LTGCM: Third Generation TSH Control (single-level, low control)

Also Required
Distilled or deionized water; test tubes; controls.

Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual for preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval: 4 weeks

Quality Control Samples: Follow government regulations or accreditation requirements for quality control frequency.

Use controls or serum pools with at least two levels (low and high) of TSH.

Siemens Healthcare Diagnostics recommends the use of commercially available quality control materials with at least 2 levels (low and high). A satisfactory level of performance is achieved when the analyte values obtained are within the Acceptable Control Range for the system, or within an established range determined by an appropriate internal laboratory quality control scheme.

Expected Values

Based on its relationship to IMMULITE Third Generation TSH (see Method Comparison), the assay can be expected to have essentially the same euthyroid reference range:

Adult Euthyroid: 0.4–4 µIU/mL

TSH levels in frank hyperthyroidism are typically less than 0.01 µIU/mL. Values between 0.01 µIU/mL and 0.4 µIU/mL should be further evaluated, as they may indicate borderline hyperthyroidism, or may be due to severe nonthyroidal illness (NTI) or acute drug therapy.[1]

Pediatric: Reference intervals for the pediatric population (children and adolescents) were established for the IMMULITE Third Generation TSH assay in accordance with CLSI guideline EP28-A3C.[11]

For analysis of data, the population was divided into three age subgroups:

- Infants: subjects aged 1–23 months
- Children: subjects aged 2–12 years
- Adolescents: subjects aged 13–20 years

A non-parametric approach was used to establish the reference intervals for children and adolescents where the 2.5 and 97.5 percentiles of the distribution of values were calculated. For the infant population, a robust measure of location and spread, as developed by Horn and Pesce, was used to estimate the 2.5 and the 97.5 percentile reference intervals, accommodating the smaller sample size.[11–13]

The reference intervals detailed by age group and number of samples are presented in the Reference Intervals table.

IMMULITE 2000 Third Generation TSH Pediatric Reference Intervals

Age Group	*n*	Conventional (µIU/mL)	SI (mIU/L)
Infants* (1 – 23 Months)	90	0.83 – 6.5	0.83 – 6.5
Children (2 – 12 Years)	195	0.58 – 4.1	0.58 – 4.1
Adolescents (13 – 20 Years)	148	0.39 – 4.0	0.39 – 4.0

* The upper limit (97.5 percentile) of the infant reference interval was determined to be 6.5 µIU/mL (mIU/L). Data from this infant population (n = 90) have demonstrated a highly skewed distribution to the right; therefore, the estimate of the upper limit of the reference interval has some uncertainty with a 90% probability that the upper limit of the reference interval can be between 5.6 to 7.7 µIU/mL (mIU/L).

Consider these limits as guidelines only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

Limitations

The IMMULITE 2000 Third Generation TSH assay is not indicated for use with neonatal blood spots for newborn screening.

As with any immuno-recognition measurement of a peptide, extremely rare genetic variants may exhibit varying degrees of detection.

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 µIU/mL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Calibration Range: Up to 75 µIU/mL (WHO 2nd IRP 80/558)

Analytical Sensitivity: 0.004 µIU/mL

High-Dose Hook Effect: None up to 14,000 µIU/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 TSH solutions (273, 1387 and 3290 µIU/mL) were assayed. (See “Recovery” table for representative data.)

Specificity: The antibody is highly specific for TSH. (See “Specificity” table.)

Bilirubin: Presence of bilirubin in concentrations up to 200 mg/L has no effect on results, within the precision of the assay.

Biotin: Specimens that contain biotin at a concentration of 1500 ng/mL demonstrate a less than or equal to 10% change in results. Biotin concentrations greater than this may lead to incorrect results for patient samples.

Hemolysis: Presence of packed red blood cells in concentrations up to 30 µL/mL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 5000 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 10 volunteers into plain, heparinized, EDTA and Becton Dickinson SST® vacutainer tubes. All samples were assayed by the IMMULITE 2000 Third Generation TSH procedure. By linear regression:

(Heparin) = 0.95 (Serum) + 0.06 µIU/mL
r = 0.999

(EDTA) = 0.64 (Serum) + 0.02 µIU/mL
r = 0.998

(SST) = 0.99 (Plain Tubes) – 0.11 µIU/mL
r = 0.991

Means:
1.65 µIU/mL (Serum)
1.62 µIU/mL (Heparin)
1.07 µIU/mL (EDTA)
1.52 µIU/mL (SST)

Method Comparison: The assay was compared to IMMULITE Third Generation TSH on 106 samples. (Concentration range: approximately 0.006 to 60 µIU/mL. See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 0.94 (IML) + 0.23 µIU/mL
r = 0.985

Means:
6.4 µIU/mL (IMMULITE 2000)
6.5 µIU/mL (IMMULITE)

References

1) Hay ID, Bayer MF, et al. American Thyroid Association assessment of current free thyroid hormone and thyrotropin measurements and guidelines for future clinical assays. Clin Chem 1991;37:2002-8. 2) Lindstedt G, et al. Clinical use of laboratory thyroid tests and investigations. JIFCC 1994;6:136-41. 3) Mandel SJ, Brent GA, Larsen PR. Levothyroxine therapy in patients with thyroid disease. Ann Intern Med 1993;119:492-502. 4) Singer PA, Cooper DS, et al. Treatment guidelines for patients with hyperthyroidism and hypothyroidism. JAMA 1995;273:808-12. 5) Spencer CA, Takeuchi M, Kazarosyan M, et al. Interlaboratory/intermethod differences in functional sensitivity of immunometric assays of thyrotropin (TSH) and impact on reliability of measurement of subnormal concentrations of TSH. Clin Chem 1995;41:367-74. 6) Spencer CA, Takeuchi M, Kazarosyan M. Current status and performance goals for serum thyrotropin (TSH) assays. Clin Chem 1996;42:140-5. 7) Baloch Z, Carayon P, Conte-Devolx B, Demers LM, Feldt-Rasmussen U, Henry JF, et al.; Guidelines Committee, National Academy of Clinical Biochemistry (NACB). Laboratory medicine practice guidelines (LMPG). Laboratory support for the diagnosis and monitoring of thyroid disease. Thyroid 2003 Jan;13(1):3-126. Also available at http://www.nacb.org/lmpg/thyroid_LMPG_Word.stm (accessed January 2005). 8) Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. MMWR, 1988;37:377–82, 387–8. 9) Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3. 10) Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030. 11) Clinical and Laboratory Standards Institute. *Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Third Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010. CLSI Guideline EP28-A3C. 12) Horn PS, Pesce AJ, Reference Intervals. A User's Guide, Washington, DC:AACC Press; 2005. 13) Reed AH, Henry RJ, Mason WB. Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. 1971; 17:275-284.

Technical Assistance

Contact your National Distributor.

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

Precision (µIU/mL)

		Within-Run[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	0.016	0.002	12.5%	0.002	12.5%
2	0.32	0.017	5.3%	0.017	5.3%
3	1.3	0.05	3.8%	0.06	4.6%
4	3.3	0.13	3.9%	0.16	4.8%
5	7.3	0.37	5.1%	0.37	5.1%
6	19	0.73	3.8%	0.85	4.5%
7	39	2.0	5.1%	2.5	6.4%

Linearity (µIU/mL)

	Dilution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	16 in 16[5]	6.4	—	—
	8 in 16	3.1	3.2	97%
	4 in 16	1.6	1.6	100%
	2 in 16	0.86	0.80	108%
	1 in 16	0.42	0.40	105%
2	16 in 16	21	—	—

	8 in 16	10.3	10.6	97%
	4 in 16	4.7	5.3	89%
	2 in 16	2.4	2.6	92%
	1 in 16	1.1	1.3	85%

	Dilution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
3	16 in 16	58	—	—
	8 in 16	30	29	103%
	4 in 16	15	15	100%
	2 in 16	7.6	7.3	104%
	1 in 16	3.7	3.6	103%

Recovery (µIU/mL)

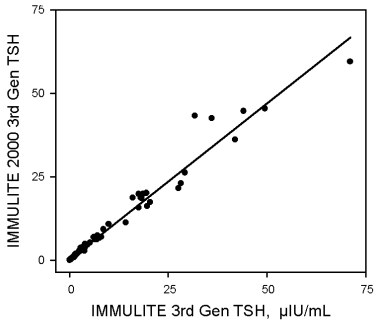
	Solution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	—	0.72	—	—
	A	14	14	100%
	B	71	70	101%
	C	166	165	101%
2	—	4.7	—	—
	A	18	18	100%
	B	75	74	101%
	C	164	169	97%
3	—	7.2	—	—
	A	20	20	100%
	B	78	76	103%
	C	173	171	101%

Specificity

Compound[1]	ng/mL Added[2]	% Cross reactivity[3]
FSH	100	ND
LH	200	ND
HCG	1000	ND

ND: Not detectable[4]

Method Comparison



(IML 2000) = 0.94 (IML) + 0.23 µIU/mL
r = 0.985

Deutsch. **Precision**: [1]Intra-Assay, [2]Gesamt, [3]Mittelwert, [4]S (Standardabweichung), [5]CV (Variationskoeffizient). **Linearity**: [1]Verdünnung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E, [5]16 in 16. **Recovery**: [1]Lösung, [2]Beobachten (B), [3]Erwarten (E), [4]% B/E. **Specificity**: [1]Verbindung, [2]zugesetzte Menge, [3]% Kreuzreaktivität, [4]NN: Nicht nachweisbar. **Method Comparison**: Third Generation TSH: TSH 3. Generation.

Español. **Precision**: [1]Intraensayo, [2]Total, [3]Media, [4]DS, [5]CV. **Linearity**: [1]Dilución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]16 en 16. **Recovery**: [1]Solución, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Specificity**: [1]Compuesto, [2]Cantidad añadida, [3]% Reacción cruzada, [4]ND: no detectable. **Method Comparison**: Third Generation TSH: TSH Tercera Generación.

Français. **Precision**: [1]Intraessai, [2]Total, [3]Moyenne, [4]SD, [5]CV. **Linearity**: [1]Dilution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A, [5]16 dans 16. **Recovery**: [1]Solution, [2]Observé (O), [3]Attendu (A), [4]%O/A. **Specificity**: [1]Composé, [2]ajouté, [3]Réaction croisée %. [4]ND: non détectable. **Method Comparison**: Third Generation TSH: TSH 3eme Génération.

Italiano. **Precision**: [1]Intra-serie, [2]Totale, [3]Media, [4]SD (Deviazione Standard), [5]CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity**: [1]Diluizione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A, [5]16 in 16. **Recovery**: [1]Soluzione, [2]Osservato (O), [3]Atteso (A), [4]%O/A. **Specificity**: [1]Composto, [2]quantità aggiunta, [3]Percentuale di Crossreattività, [4]ND: non determinabile. **Method Comparison**: Third Generation TSH: TSH Di Terza Generazione.

Português. **Precision**: [1]Entre-ensaios, [2]Total, [3]Média, [4]Desvio padrão, [5]Coeficiente de variação. **Linearity**: [1]Diluição, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E, [5]16 em 16. **Recovery**: [1]Solução, [2]Observado (O), [3]Esperado (E), [4]%O/E. **Specificity**: [1]Composto, [2]Quantidade adicionada, [3]Percentagem de reacção cruzada,

[4]ND: não detectável. **Method Comparison**: Third Generation TSH: TSH 3a Geração.

Deutsch

TSH 3. Generation

Anwendung: *In-vitro*-Diagnostikum zur quantitativen Bestimmung von Thyrotropin (TSH) in Serum unter Verwendung der IMMULITE® 2000 Analysesysteme. Messungen des schilddrüsenstimulierenden Hormons, das durch den Hypophysenvorderlappen produziert wird, erfolgen zur Diagnose von Erkrankungen der Schilddrüse oder Hypophyse.

Artikelnummern:
L2KTS2 (200 tests)
L2KTS6 (600 tests)

Testcode: **TSH** Farbe: **rot**

Klinische Relevanz

Die Hauptfunktion des Thyreoidea-stimulierenden Hormons (Thyreotropin, TSH), eines Hypophysenvorderlappen-Hormons, ist die Regulierung der Schilddrüsenfunktion, insbesondere der T3- und T4-Homöostase. TSH selbst wird durch einen negativen Feedback-Mechanismus über zirkulierendes T3 und T4 und über das hypothalamische TRH (Thyreotropin-Releasing-Hormon) reguliert. TSH zeigt eine gering ausgeprägte circadiane Rhythmik.

Bei der primären Hypothyreose (ungenügende T3- und T4-Produktion) ist das TSH deutlich erhöht. Dagegen sind bei der sekundären Hypothyreose (HVL-Störung) und der tertiären Hypothyreose (Hypo-thalamus-Störung) sowohl die T3- und T4-Spiegel, als auch die TSH-Spiegel er-niedrigt. Bei einer Hyperthyreose ist bei erhöhten T4- und /oder T3-Spiegeln das TSH normalerweise erniedrigt. In seltenen Fällen einer Überstimulation der Schilddrüse, bedingt durch Funktionsstörungen der Hypophyse oder des Hypothalamus, können erhöhte TSH-Spiegel gefunden werden.

Die diagnostische Hauptrolle der TSH-Bestimmung liegt im Screening der Schilddrüsenfunktion, der Differentialdiagnose der Hypothyreose und im Monitoring einer Schilddrüsenhormontherapie. Da sich Schilddrüsenerkrankungen langsam und schleichend entwickeln, ist zu berücksichtigen, dass nicht bei allen Patienten TSH-Konzentrationen weit außerhalb des Referenzbereichs gemessen werden. Andererseits liegt die TSH-Konzentration bereits in der frühen subklinischen Phase der Erkrankungen zuerst außerhalb des Referenzbereichs und kann als Indikator eingesetzt werden.

In Forschungsstudien wurde herausgefunden, dass offensichtlich gesunden Patienten mit einem TSH-Wert von größer 2,0 µIU/ml ein erhöhtes Risiko haben, in den nächsten 20 Jahren eine Schilddrüsenerkrankung zu entwickeln. Es wurde vorgeschlagen, die obere Grenze des Serum TSH Referenzbereiches auf 2,5 µIU/ml zu reduzieren. Es wurden bei mehr als 95 % der normalen, euthyreoten Spendern Serum TSH-Werte zwischen 0,4 und 2,5 µIU/ml gemessen.[7]

Methodik

IMMULITE 2000 TSH 3 Generation ist ein Festphasen, Zwei-phasen Chemilumineszenz immunometrischer Assay.

Inkubationszyklen: 1 × 60 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.

EDTA-Plasma ist als Probenart nicht geeignet.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter 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 TSH 3. Generation sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel „Alternative Probenarten“ zu entnehmen.

Erforderliches Volumen: 75 µl Serum

Lagerung: 5 Tage bei 2–8°C oder 1 Monat bei –20°C.[1]

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *in vitro*-Diagnostik.

VORSICHT! BIOLOGISCHES RISIKOMATERIAL
Enthält Material humanen Ursprungs. Alle Blutspenden oder Blutkomponenten menschlicher Herkunft wurden nach FDA-genehmigten Methoden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die HI-Viren Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2) sowie von Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und Antikörpern gegen den Hepatitis C-Virus (HCV) getestet. Die Testergebnisse waren negativ (nicht wiederholt reaktiv). Durch keinen Test kann das Vorhandensein dieser oder anderer infektiöser Stoffe vollständig ausgeschlossen werden. Dieses Material ist mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und gemäß der allgemein anerkannten guten Laborpraxis zu handhaben.[8-10]

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.

H412	Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.
P273, P501	Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Inhalt und Behälter sind in Übereinstimmung mit den gesetzlichen Bestimmungen zu entsorgen. **Enthält:** 2-Methyl-2H-isothiazolin-3-on; TSH-Kalibratoren

Reagenzien: Bei 2–8°C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Bestimmten Komponenten wurde Natriumazid (< 0,1 g/dl) hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu verhindern, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

Chemilumineszenz-Substrat: Kontamination und direkte Sonneneinstrahlung vermeiden. (Siehe Packungsbeilage.)

Wasser: Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser benutzen.

Im Lieferumfang enthalten

Die Bestandteile sind aufeinander abgestimmt. Die Aufkleber auf der Innenverpackung werden zur Testdurchführung gebraucht.

TSH Kugel-Container (L2TS12)
Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit TSH-Antikörpern (monoklonal, Maus). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

L2KTS2: 1 Container
L2KTS6: 3 Container

TSH-Reagenzbehälter (L2TSA2)
Mit Barcode. 23 ml polyklonale Anti-TSH-Antikörper (Ziege) konjugiert mit alkalischer Phosphatase (Kälberdarm) in Puffer (mit Konservierungsmittel), zu gleichen Mengen in den Kammern A und B. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

L2KTS2: 1 Behälter
L2KTS6: 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.

TSH-Kalibratoren (LTSL, LTSH)
Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) mit lyophilisiertem humanem TSH in einer Serum/Puffer-Matrix. Fläschchen mit je **4,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituiert. 30 min. stehen lassen, dann zum Mischen *leicht* schwenken oder umdrehen. Nach Rekonstituierung 30 Tage bei 2–8°C, sonst 6 Monate (portioniert) bei –20°C haltbar.

L2KTS2: 1 Set
L2KTS6: 2 Sets

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Röhrchen kleben, so daß die Barcodes vom Barcodereader des Systems gelesen werden können.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

TSH Verdünnungspuffer (L2TSZ)
Zur automatischen Verdünnung von Proben hoher Konzentration. Es enthält 25 ml Konzentrat (gebrauchsfertig), das aus einer TSH-freien Serum/Puffer Grundsubstanz besteht. Lagerung: 30 Tage (nach Öffnen) bei 2–8°C oder 6 Monate (portioniert) bei –20°C.

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, so dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.
L2TSZ: 3 Etiketten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul
L2PWSM: Waschmodul
L2KPM: Reinigungsmodul
LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße
L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm) für die Probenverdünnung
L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

LTGCM: IMMULITE TSH 3. Gen. Kontrolle (Einzellevel, niedrige Kontrolle)

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Röhrchen; Kontrollen

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Verdünnung, Kalibration, Test- und Qualitätskontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
4 Wochen

Proben zur Qualitätskontrolle: Jeweils gültige gesetzlichen Bestimmungen oder Akkreditierungsanforderungen sind bei der Festlegung der Intervalle zur Durchführung der Qualitätskontrollen zu berücksichtigen.

Kontrollen oder Sammelserum mit TSH in mindestens zwei Konzentrationen (niedrig und hoch) verwenden.

Siemens Healthcare Diagnostics empfiehlt die Verwendung von kommerziell verfügbaren Qualitätskontrollen in mindestens 2 Konzentrationen (niedrig und hoch). Der Systembetrieb gilt dann als zufriedenstellend, wenn die Analytwerte innerhalb des für das System zulässigen Kontrollbereichs oder des für die laborinternen Qualitätskontrollverfahren festgelegten zulässigen Bereichs liegen.

Referenzwerte

In einer vorläufigen Studie des Herstellers basierend auf der Korrelation zum IMMULITE-TSH 3. Generation (siehe *Methoden-vergleich*), wurden die folgenden Referenzbereiche ermittelt.

Euthyreote Erwachsene: 0,4–4 µIU/ml

Da TSH Konzentrationen zwischen 0,01 µIU/ml und 0,4 µIU/ml auf eine subklinische Hyperthyreose, schwere nicht-Schilddrüsen bezogene Allgemeinerkrankungen (NTI) oder auch durch Medikamenten bedingte Störungen der Schilddrüsen-Stoffwechsellage hinweisen können, sollten bei diesen Patienten weitere diagnostische Maßnahmen durchgeführt.[1]

Kinder: Die pädiatrischen Referenzbereiche (Kinder und Jugendliche) wurden in Übereinstimmung mit der CLSI-Richtlinie EP28-A3C für den IMMULITE TSH 3. Generation-Test festgelegt.[11]

Für die Datenanalyse wurde die Population nach Alter in drei Untergruppen eingeteilt:

- Kleinkinder: Probanden im Alter von 1–23 Monaten
- Kinder: Probanden im Alter von 2–12 Jahren
- Jugendliche: Probanden im Alter von 13–20 Jahren

Die Referenzbereiche für Kinder und Jugendliche wurden mit Hilfe einer nonparametrischen Methode ermittelt, wobei das 2,5. und 97,5. Perzentil der Werteverteilung berechnet wurden. In der Kleinkinderpopulation wurde zur Berücksitigung der geringeren Probenanzahl der Stichprobe eine robuste, von Horn und Pesce entwickelte Methode zur Ermittlung des Referenzintervalls und der 2,5. und 97,5. Perzentile verwendet.[11–13]

Die nach Altersgruppe und Anzahl der Proben aufgeschlüsselten Referenzbereiche sind in der Tabelle „Referenzbereiche“ dargestellt.

Pädiatrische Referenzbereiche für IMMULITE 2000 TSH 3. Generation

Altersgruppe	*n*	Konventionell (µIU/ml)	SI (mIU/l)
Kleinkinder* (1–23 Monate)	90	0,83–6,5	0,83–6,5
Kinder (2–12 Jahre)	195	0,58–4,1	0,58–4,1
Jugendliche (13–20 Jahre)	148	0,39–4,0	0,39–4,0

* Als obere Grenze (97,5. Perzentil) des Referenzbereichs für Kleinkinder wurden 6,5 µIU/ml (mIU/l) ermittelt. In der Kleinkinderpopulation (n = 90) zeigte sich eine unsymmetrische, nach rechts verschobene Verteilung. Daher weist die Abschätzung der Obergrenze des Referenzbereichs eine gewisse Unsicherheit auf, die mit einer Wahrscheinlichkeit von 90 %, auf eine Obergrenze des Referenzbereichs zwischen 5,6 bis 7,7 µIU/ml (mIU/l) hinweist.

Betrachten Sie diese Grenzwerte nur als *Richtlinien*. Jedes Labor sollte eigene Referenzbereiche ermitteln.

Grenzen der Methode

Kann nicht für Neugeborenen-Screening mit Filterpapierproben verwendet werden.

Wie bei jeder Immunerkennungsmessung eines Peptids weisen äußerst seltene genetische Varianten möglicherweise variierende Nachweisgrade auf.

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 µIU/ml ausgedrückt. (Alle Daten wurden — sofern nicht anders angegeben — aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Messbereich: Bis 75 µIU/ml (WHO 2nd IRP 80/558)

Analytische Sensitivität: 0,004 µIU/ml

High-dose-Hook Effekt: nicht nachweisbar bis 14 000 µIU/ml

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Testansätzen in Doppelbestimmung gemessen (insgesamt 40 Bestimmungen und 80 Einzelmessungen; siehe Tabelle „Präzision“).

Linearität: Proben wurden in verschiedenen Verdünnungen getestet.

(Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Linearität“.)

Wiederfindung: Die getesteten Proben waren mit drei Lösungen (273, 1387 und 3290 µIU/ml) 1:19 versetzt. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Recovery“.)

Spezifität: Hochspezifischer TSH (siehe Tabelle „Spezifität“).

Bilirubin: Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Biotin: Proben, die Biotin in einer Konzentration von 1500 ng/ml enthalten, zeigen eine Veränderung der Ergebnisse von kleiner oder gleich 10 %. Größere Biotin-Konzentrationen als diese können zu falschen Ergebnissen bei Patientenproben führen.

Hämolyse: Erythrozytenkonzentrate haben in Konzentrationen bis zu 30 µl/ml keinen Einfluss auf die Messung, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride hat in Konzentrationen bis zu 5000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Alternativer Probentyp: Um die Auswirkungen von verschiedenen Probenarten zu untersuchen, wurde Blut von 10 Freiwilligen in Röhrchen ohne Additiva, in Heparin-, EDTA- und Becton Dickinson SST Vacutainer-Rörchen gesammelt. Alle Proben wurden im IMMULITE 2000 Assay für TSH 3 Generation gemessen. Durch lineare Regression:

(Heparin) = 0,95 (Serum) + 0,06 µIU/ml
r = 0,999

(EDTA) = 0,64 (Serum) + 0,02 µIU/ml
r = 0,998

(SST) = 0,99 (einfachen Röhrchen) – 0,11 µIU/ml
r = 0,991

Mittelwerte:
1,65 µIU/ml (Serum)
1,62 µIU/ml (Heparin)
1,07 µIU/ml (EDTA)
1,52 µIU/ml (SST)

Methodenvergleich: Der Assay wurde unter Verwendung von 106 Patientenproben mit IMMULITE TSH 3. Generation verglichen. (Konzentrationsbereich ca. 0,006–60 µIU/ml. Siehe Grafik.) Berechnung der linearen Regression:

(IML 2000) = 0,94 (IML) + 0,23 µIU/ml
r = 0,985

Mittelwert:
6,4 µIU/ml (IMMULITE 2000)
6,5 µIU/ml (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung vor Ort.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

TSH Tercera Generación

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro*, usado con los analizadores de los sistemas IMMULITE® 2000 para la medición cuantitativa de tirotropina (TSH) en suero. Las mediciones de la hormona estimulante del tiroides producida por la pituitaria anterior se usan en el diagnóstico de trastornos tiroideos o pituitarios.

Números de Catálogo:
L2KTS2 (200 tests)
L2KTS6 (600 tests)

Código del Test: **TSH** Color: **Rojo**

Resumen y Explicación del Test

La hormona estimulante del tiroides (tirotropina, TSH) es una hormona de la pituitaria que, por su acción sobre la glándula tiroides, juega un papel importante en el mantenimiento de los niveles circulantes normales de las iodotironinas, T3 y T4. La TSH es controlada por un feedback negativo de T4 y T3, y por la hormona hipotalámica TRH (hormona liberadora de tirotropina). La TSH muestra un pequeño ritmo circadiano.

En hipotiroidismo primario, donde existe una disminución de producción de

hormonas tiroideas, el nivel de TSH está generalmente muy elevado. En hipotiroidismo secundario o terciario, por otro lado, donde la producción de hormona tiroidea es baja como consecuencia de lesiones hipotalámicas o pituitarias, la TSH está generalmente baja. En hipertiroidismo, el nivel de TSH está tipicamente deprimido a niveles inferiores a los normales. Con menos frecuencia, esta situación puede deberse a una hiperestimulación del tiroides, debido a lesiones hipotalámicas o pituitarias, en cuyo caso el nivel de TSH está normalmente aumentado.

La medida de la TSH circulante se ha utilizado como un test primario para diagnóstico diferencial del hipotiroidismo y como ayuda en el seguimiento de la eficacia de la terapia sustitutiva con hormona tiroiodea. Debe recordarse que el hipertiroidismo e hipotiroidismo son clasificaciones de enfermedad. Esto implica que no se puede esperar que todos los pacientes dentro de estas categorías de enfermedad tengan niveles de TSH fuera del rango eutiroideo. Por otro lado, los valores de TSH salen del rango de referencia eutiroideo en las fases muy tempranas del desarrollo de la enfermedad tiroidea, mientras la enfermedad del paciente es todavía subclínica y los valores de hormonas tiroideas todavía permanecen dentro del rango de referencia eutiroideo.

Diversos estudios han encontrado que los pacientes aparentemente sanos con valores de TSH > 2,0 µIU/ml tienen un riesgo incrementado de desarrollar enfermedades tiroideas en los siguientes 20 años. Se ha sugerido que es probable que el límite superior del rango de referencia eutiroideo de TSH en suero sea reducido a 2,5 µIU/ml porque >95% de los voluntarios eutiroideos normales cribados rigurosamente tienen valores de TSH en suero entre 0,4 y 2,5 µIU/ml[7].

Principio del análisis

IMMULITE 2000 TSH Tercera Generación es un ensayo inmunométrico con dos sitios de unión, quimioluminiscente en fase sólida.

Ciclos de incubación: 1 × 60 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.

El plasma con EDTA no deberia ser usado como muestra.

La centrifugacion de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erroneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. La TSH Tercera Generación 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: 75 µl de suero

Conservación: 5 días a 2–8°C, o 1 mes a –20°C[1].

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.



¡PRECAUCIÓN! RIESGO BIOLÓGICO POTENCIAL
Contiene material de origen humano. Cada donación de sangre humana o componente sanguíneo ha sido probada por métodos aprobados por la FDA con el fin de detectar la presencia de anticuerpos de los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2), así como el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y el anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (VHC). Los resultados de estas pruebas fueron negativos (no repetidamente reactivos). Ninguna prueba ofrece total garantía de que en las muestras no haya estos agentes infecciosos u otros; por tanto, este material se deberá manipular conforme a las prácticas recomendables de laboratorio y las precauciones universales[8-10].

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.

H412 **P273, P501**	Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. Evitar su liberación al medio ambiente. Eliminar el contenido y el recipiente de acuerdo con las normativas locales, regionales y nacionales. **Contiene:** 2-metil-2H-isotiazol-3-ona; Ajustadores de TSH

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 eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las canerias de cobre y plomo.

Substrato quimioluminiscente: Evitar la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto).

Agua: Usar agua destilada o desionizada.

Materiales Suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

Cartucho de bolas de TSH (L2TS12)
Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpo monoclonal murino anti-TSH. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KTS2: 1 cartucho
L2KTS6: 3 cartuchos

Vial de reactivo de TSH (L2TSA2)
Con códigos de barras. 23 ml de anticuerpo policlonal de cabra anti-TSH conjugado con fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) en solución tampón (con conservante), repartido a partes iguales en las cámaras A y B. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KTS2: 1 vial
L2KTS6: 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 TSH (LTSL, LTSH)
Dos viales (bajo y alto) de TSH humana liofilizada en una matriz de suero/tampón. Reconstituir cada vial añadiendo **4,0 ml** de agua destilada. Deje reposar durante 30 minutos, mezcle por agitación o inversión suave. Estable a 2–8°C durante 30 días después de la reconstitución, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.

L2KTS2: 1 juego
L2KTS6: 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 TSH (L2TSZ)
Para la dilución de muestras de alta concentración dentro del equipo. 25 ml de un concentrado listo para usarse, compuesto de una matriz de suero libre de TSH en solución tampón.
Conservación: 30 días (después de su apetura) a 2–8°C o 6 meses (alicuotado) 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 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.
L2TSZ: 3 etiquetas

L2SUBM: Substrato quimioluminiscente
L2PWSM: Lavado de sonda
L2KPM: Kit de limpieza de sonda
LRXT: Tubos de reacción (desechables)
L2ZT: 250 Tubos de Diluyente de la Muestra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tapones del Tubo del Diluyente de la Muestra

LTGCM: Módulo de Control de IMMULITE TSH Tercera Generación (un nivel bajo)

También necesarios
Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles

Ensayo

Aviso: para obtener un funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:
4 semanas

Muestras de Control de Calidad: Seguir las reglamentaciones gubernamentales o los requisitos de acreditación para conocer la frecuencia de control de calidad.

Utilizar controles o pooles de sueros con al menos dos niveles diferentes de TSH (bajo y alto).

Siemens Healthcare Diagnostics recomienda el uso de materiales de control de calidad comercializados con al menos 2 niveles (bajo y alto). Un nivel de funcionamiento satisfactorio se consigue cuando los valores obtenidos del analito están dentro del rango de control aceptable para el sistema, o dentro del rango establecido determinado por un programa adecuado de control de calidad interno de laboratorio.

Valores Esperados

Basado en su relación con el IMMULITE TSH Tercera Generación (ver Método de Comparación), se puede esperar que el ensayo tenga esencialmente los mismos rangos de referencia.

Adultos eutiroideos: 0,4–4 µIU/ml

Los niveles de TSH en hipertiroidismo franco son generalmente menores de 0,01 µIU/ml. Los valores entre 0,01 µIU/ml y 0,4 µIU/ml deben ser evaluados posteriormente, ya que están en el límite del hipertorioidismo, o pueden ser debidos a una enfermedad no tiroidea severa (NTI) o a una terapia aguada con fármacos[1].

Niños: se establecieron los intervalos de referencia de la población pediátrica (niños y adolescentes) para el ensayo TSH Tercera Generación IMMULITE con la directriz EP28-A3C del CLSI[11].

La población se dividió en tres subgrupos de edad para analizar los datos:

- Lactantes: sujetos 1–23 meses de edad
- Niños: sujetos 2–12 años de edad
- Adolescentes: sujetos 13–20 años de edad

Se usó un abordaje no paramétrico para establecer los intervalos de referencia para niños y adolescentes, de los que se calcularon los percentiles 2,5 y 97,5 de distribución de los valores. Para la población de lactantes, Horn y Pesce desarrollaron una medición sólida de la ubicación y propagación que se usó para calcular los intervalos de referencia de los percentiles 2,5 y 97,5, lo que permite incluir el tamaño de muestra más pequeño[11-13].

Los intervalos de referencia detallados por grupo de edad y número de muestras se presentan en la tabla Intervalos de referencia.

Intervalos de referencia de TSH Tercera Generación IMMULITE 2000 para la población pediátrica

Grupo de edad	*n*	Convencional (µIU/ml)	SI (mIU/l)
Lactantes* (1–23 meses)	90	0,83–6,5	0,83–6,5
Niños (2–12 años)	195	0,58–4,1	0,58–4,1
Adolescentes (13–20 años)	148	0,39–4,0	0,39–4,0

* Se ha determinado que el límite superior (97,5 percentil) del intervalo de referencia para lactantes es de 6,5 µIU/ml (mIU/l). Los datos de esta población de lactantes (n = 90) han demostrado una distribución altamente sesgada a la derecha; por tanto, la estimación del límite superior del intervalo de referencia tiene cierta incertidumbre con una probabilidad del 90% de que el límite superior del intervalo de referencia pueda estar entre 5,6 y 7,7 µIU/ml (mIU/l).

Estos límites han de considerarse sólo como una *guía*. Cada Laboratorio deberá establecer sus propios rangos de referencia.

Limitaciones

El ensayo no está indicado para su uso con muestras sanguíneas de neonatos en papel para screening neonatal.

Como con cualquier medición de reconocimiento inmunológico de un péptido, las variantes genéticas extremadamente raras pueden presentar distintos grados de detección.

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis *in vitro*. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988:34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasione un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia, no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

Características Analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo ver las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en µIU/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.)

Intervalo de calibración:
Hasta 75 µIU/ml (WHO 2ºIRP 80/558)

Sensibilidad: 0,004 µIU/ml

Efecto Hook a dosis elevadas: No aparece hasta 14 000 µIU/ml

Precisión: Las muestras fueron analizadas por duplicado durante 20 días, en dos tandas de trabajo por día, para un total de 40 tandas y 80 replicados. (Ver la tabla de “Precision”.)

Linealidad: Las muestras fueron analizadas en varias diluciones. (Ver la tabla de “Linearity” para resultados representativos.)

Recuperación: Se analizaron muestras sobrecargadas 1 en 19 con tres soluciones de TSH (273, 1387 y 3290 µIU/ml). (Ver la tabla de “Recovery” para resultados representativos.)

Especificidad: El ensayo es altamente específico para TSH. (Ver la tabla de “Specificity”.)

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina, en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Biotina: Las muestras que contienen biotina en una concentración de 1500 ng/ml han demostrado un cambio igual o inferior al 10% en los resultados. Una concentración de biotina superior a esta puede producir resultados incorrectos para las muestras del paciente.

Hemolisis: La presencia de eritrocitos hasta concentraciones de 30 µl/ml no tiene efecto en los resultados, en lo concerniente a la precisión del ensayo.

Lipemia: La presencia de triglicéridos en concentraciones hasta 5000 mg/dl no tiene efecto alguno en los resultados, en lo correspondiente a la precisión del ensayo.

Tipo de Muestra Alternativa: para evaluar el efecto de los diferentes tipos de muestras alternativos, se recogió sangre de 10 voluntarios en tubos normales, tubos con Heparina, tubos con EDTA y tubos vacutainer SST de Becton Dickinson. Todas las muestras se analizaron mediante el procedimiento TSH Tercera Generación IMMULITE 2000. Por regresión lineal:

(Heparina) = 0,95 (Suero) + 0,06 µIU/ml
r = 0,999

(EDTA) = 0,64 (Suero) + 0,02 µIU/ml
r = 0,998

(SST) = 0,99 (tubos simples) – 0,11 µIU/ml
r = 0,991

Medias:
1,65 µIU/ml (Suero)
1,62 µIU/ml (Heparina)
1,07 µIU/ml (EDTA)
1,52 µIU/ml (SST)

Comparación del Método: El ensayo fue comparado con el IMMULITE TSH Tercera Generación en 106 muestras de pacientes. (Rango de Concentración: aproximadamente 0,006 a 60 µIU/ml. Ver el gráfico.) Por regresión linear:

(IML 2000) = 0,94 (IML) + 0,23 µIU/ml
r = 0,985

Medias:
6,4 µIU/ml (IMMULITE 2000)
6,5 µIU/ml (IMMULITE)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

TSH 3ème Génération

Domaine d'utilisation : Ce test est réservé pour un usage diagnostique *in vitro* avec les systèmes IMMULITE® 2000, pour le dosage quantitatif de la thyrotropine (TSH) dans le sérum. Les dosages de l'hormone de stimulation de la thyroïde produite par l'adénohypophyse sont utilisés pour diagnostiquer les troubles thyroïdiens ou hypophysaires.

Référence catalogue :
L2KTS2 (200 tests)
L2KTS6 (600 tests)

Code produit : **TSH** Code couleur : **rouge**

Introduction

La thyrotropine (TSH) est une hormone hypophysaire qui, par son action sur la thyroïde, joue un rôle essentiel dans la régulation des taux normaux circulants des hormones thyroïdiennes T4 et T3. Le taux de TSH est régulé par un rétrocontrôle négatif des hormones T4 et T3 et par l'hormone hypothalamique TRH. La TSH suit un léger rythme circadien.

Dans l'hypothyroïdie primaire, c'est-à-dire lors d'une production défaillante des hormones thyroïdiennes, le taux de TSH est classiquement élevé. Dans l'hypothyroïdie secondaire ou tertiaire en revanche, lorsqu'un taux bas d'hormones thyroïdiennes est le résultat d'un dysfonctionnement ou de lésions hypothalamiques ou hypophysaires, le taux de TSH est habituellement bas. Dans l'hyperthyroïdie, le taux de TSH est généralement abaissé en dessous des valeurs subnormales. Plus rarement, l'hyperthyroïdie peut être le résultat d'une hyperstimulation thyroïdienne due à des lésions hypothalamiques ou hypophysaires, dans ce cas le taux de TSH est généralement augmenté.

La mesure du taux de TSH circulante est utilisée pour le diagnostic de l'hypothyroïdie et comme une aide à la confirmation et au diagnostic différentiel des autres pathologies thyroïdiennes. Les dosages de TSH sont aussi utilisés dans le suivi des traitements de substitution et freination. Il peut être rappelé que l'hypothyroïdie et l'hyperthyroïdie peuvent atteindre différents stades. Cela sous-entend que tous les patients dans ce type de pathologie n'auront pas forcément des taux de TSH éloignés des valeurs de référence de l'euthyroïdie. D'un autre coté des taux de TSH peuvent sortir des valeurs euthyroïdiennes dans des phases très précoces du développement de maladies thyroïdiennes alors qu'il se peut que la pathologie de patients toujours au stade infraclinique ait un taux d'hormones thyroïdienne toujours à l'intérieur des valeurs de référence.

Des études appliquées ont démontré que des patients apparemment en bonne santé avec une TSH > 2,0 µUI/ml ont un risque augmenté de développer des maladies thyroïdiennes dans les 20 prochaines années. Il a été suggéré d'abaisser le seuil supérieur de l'Euthyroïdie à 2,5 µUI/ml car plus de 95 % des volontaires sains strictement sélectionnés euthyroïdiens ont des valeurs de TSH comprises entre 0,4 et 2,5 µUI/ml.[7]

Principe du test

IMMULITE 2000 TSH 3ème Génération est un dosage chimiluminescent immunométrique, en deux étapes, en phase solide.

Cycles d'incubation : 1 × 60 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.

Les echantillons ne doivent pas etre des plasmas EDTA.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dûs 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 TSH 3ème Génération 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 : 75 µl de sérum

Conservation : 5 jours à 2–8°C ou 1 mois à –20°C.[1]

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL
Contient du matériel d'origine humaine. Chaque don de sang ou de composant sanguin humain a été testé selon des méthodes homologuées par la FDA afin de détecter la présence d'anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2), ainsi que la présence d'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) et d'anticorps anti-virus de l'hépatite C (VHC). Les résultats de ces tests se sont révélés négatifs (ou positifs mais de façon non répétable). Aucun test ne peut garantir totalement l'absence d'agents infectieux tels que ceux-ci ou d'autres. Par conséquent, ce matériel doit être manipulé conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux précautions universelles.[8-10]

ATTENTION : Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.

H412 **P273, P501**	Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. Éviter le rejet dans l'environnement. Éliminer les contenus et les contenants conformément à toutes les réglementations locales, régionales et nationales. **Contient :** 2-méthyl-2H-isothiazole-3-one ; Ajusteurs TSH

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 les contaminations et l'exposition directe au soleil (voir notice).

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 TSH (L2TS12)
Code-barrée. 200 billes revêtues d'un anticorps monoclonal murin anti-TSH. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.

L2KTS2 : 1 cartouche
L2KTS6 : 3 cartouches

Cartouche-Réactif TSH (L2TSA2)
Avec code-barres. 23 ml d'un anticorps polyclonal de chêvre anti-TSH marqué à de la phosphatase alkaline (intestins de veaux) dans un tampon (avec conservateur), distribué à volume égal dans les compartiments A et B. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.

L2KTS2 : 1 cartouche
L2KTS6 : 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 TSH (LTSL, LTSH)
2 flacons d'ajusteurs (« haut » et « bas ») de TSH humaine lyophilisée dans une matrice sérum/tampon. Reconstituer chaque flacon avec **4,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Laisser reposer 30 minutes et mélanger en imprimant un léger mouvement circulaire ou délicatement par retournemant. Stable à 2–8°C 30 jours après reconstitution ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.

L2KTS2 : 1 jeu
L2KTS6 : 2 jeux

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

Composants du coffret fournis séparément

Diluant échantillon TSH (L2TSZ)
Pour la dilution à bord des échantillons de concentration élevée. 25 ml d'un concentré (prêt à l'emploi) de matrice sérum/tampon sans TSH. Stockage: 30 jours (après ouverture) à 2–8°C ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.

Les étiquettes code-barres sont fournies pour être utilisées avec le diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 × 100 mm de telle façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur lecteur interne.
L2TSZ : 3 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 × 100 mm)
L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

LTGCM : Contrôle TSH 3ème génération (un niveau, contrôle « bas »)

Egalement requis
Eau distillée ou désionisée ; tubes ; contrôles

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000.

Voir le Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000 pour la préparation, le démarrage du système, la dilution, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé : 4 semaines

Echantillons pour le contrôle de qualité : Suivre les réglementations gouvernementales et les exigences relatives aux accréditations en matière de fréquence de contrôle qualité.

Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) de TSH.

Siemens Healthcare Diagnostics recommande d'utiliser des échantillons de contrôle de qualité en vente dans le commerce et comprenant au moins 2 niveaux (bas et haut). Un niveau de performance satisfaisant est atteint lorsque les valeurs d'analyte obtenues se situent dans l'intervalle de contrôle acceptable du système ou dans un intervalle déterminé par un schéma de contrôle de qualité approprié interne au laboratoire.

Valeurs de référence

Compte tenu de la corrélation avec l'IMMULITE TSH 3ème Génération (voir Méthode de Comparaison), on peut attendre de ce test qu'il ait, pour l'essentiel, le même domaine de valeurs usuelles :

Population adulte euthyroïdienne : 0,4–4 µUI/ml

Les taux deTSH caractéristiques pour une hyperthyroïdie avérée sont inférieur à 0,01 µUI/ml. Les valeurs entre 0,01 µUI/ml et 0,4 µUI/ml doivent être évaluées d'une manière plus poussée, car ils peuvent indiquer la limite de l'hyperthyroïdie, peuvent être dues à une maladie grave non-thyroïdienne (NTI) ou encore un traitement médicamenteux intensif.[1]

Population pédiatrique : les intervalles de référence pour la population pédiatrique (enfants et adolescents) ont été établis pour le test IMMULITE TSH 3e génération conformément à la directive EP28-A3C du CLSI.[11]

Pour analyser les données, la population a été divisée en trois sous-groupes d'âge :

- Nourrissons : sujets âgés de 1–23 mois
- Enfants : sujets âgés de 2–12 ans
- Adolescents : sujets âgés de 13–20 ans

Une approche non paramétrique a été utilisée afin d'établir les intervalles de référence pour les enfants et adolescents pour lesquels les 2,5^{e} et 97,5^{e} percentiles de la distribution des valeurs ont été calculés. Comme la taille d'échantillon de la population des nourrissons est plus réduite, il a été utilisé une mesure robuste de la position et de la dispersion, telle qu'elle a été développée par Horn et Pesce, pour établir les intervalles de référence des 2,5^{e} et 97,5^{e} percentiles.[11–13]

Les intervalles de référence détaillés par groupe d'âge et par nombre d'échantillons sont indiqués dans le tableau des Intervalles de référence.

Intervalles de référence pour la population pédiatrique IMMULITE 2000 TSH 3^{e} génération

Groupe d'âge	*n*	Conventionnel (µIU/ml)	SI (mIU/l)
Nourrissons* (1–23 mois)	90	0,83 – 6,5	0,83 – 6,5
Enfants (2–12 ans)	195	0,58 – 4,1	0,58 – 4,1
Adolescents (13–20 ans)	148	0,39 – 4,0	0,39 – 4,0

* La limite supérieure (97,5^{e} percentile) de l'intervalle de référence pour les nourrissons a été déterminée à 6,5 µIU/ml (mIU/l). Les données de cette population de nourrissons (n = 90) ont démontré une distribution fortement désaxée vers la droite ; par conséquent, l'estimation de la limite supérieure de l'intervalle de référence est quelque peu incertaine avec une probabilité de 90% que la limite de l'intervalle de référence puisse se trouver entre 5,6 et 7,7 µIU/ml (mIU/l).

Utiliser ces valeurs *à titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

Limites

Le test IMMULITE 2000 3ème génération n'est pas conseillé pour les échantillons néonataux prélevés sur buvard pour le dépistage chez le nouveau-né.

Comme pour toute mesure de la reconnaissance immunitaire d'un peptide, des variantes génétiques extrêmement rares peuvent démontrer des degrés de détection variables.

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* 1998:34:27-33.] 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 de rare sérums 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'historique médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en µUI/ml. (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.)

Domaine de mesure : jusqu'à 75 µUI/ml (Seconde Préparation Internationale de l'OMS, 2nd IRP 80/558)

Sensibilité analytique : 0,004 µUI/ml

Effet-crochet : aucun jusqu'à 14 000 µUI/ml

Précision : Les échantillons ont été dosés en double essai pendant 20 jours, à raison de 2 dosages par jour, soit un total de 40 séries et 80 doublets. (Voir le tableau « Precision ».)

Test de dilution : les échantillons ont été testés avec différents taux de dilution. (Voir le tableau « Linearité » pour des données représentatives.)

Test de récupération: Les échantillons ont été dosés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions de TSH (273, 1387 et 3290 µUI/ml). (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : L'anticorps est hautement spécifique de la TSH. (Voir le tableau « Specificity ».)

Bilirubine : La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

Biotine : Les échantillons contenant de la biotine à une concentration de 1500 ng/ml présentent un changement de résultats inférieur ou égal à 10 %. Des concentrations de biotine supérieures à cette valeur peuvent entraîner des résultats d'échantillons patients erronés.

Hémolyse : La présence d'agrégat d'hématies jusqu'à une concentration de 30 µl/ml, n'a aucun effet sur les résultats quant à la précision du dosage.

Lipémie : La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 5000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

Autres types d'échantillons: pour estimer l'effet de l'utilisation de différents type d'échantillons, 10 volontaires ont été prélevés sur tubes secs, héparinés, EDTA et sur tubes vacutainer SST Becton Dickinson. Tous les échantillons ont été dosés avec le protocole l'IMMULITE 2000 TSH 3ème Génération. Par régression linéaire :

(Hépariné) = 0,95 (Sérum) + 0,06 µUI/ml
r = 0,999

(EDTA) = 0,64 (Sérum) + 0,02 µUI/ml
r = 0,998

(SST) = 0,99 (tubes ordinaires) – 0,11 µUI/ml
r = 0,991

Moyennes :
1,65 µUI/ml (Sérum)
1,62 µUI/ml (Hépariné)
1,07 µUI/ml (EDTA)
1,52 µUI/ml (SST)

Comparaison de méthodes : Le test a été comparé au test IMMULITE TSH 3ème Génération sur 106 échantillons de patients (dont les concentrations allaient

d'environ 0,006 à 60 µUI/ml. Voir graphique.) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 0,94 (IML) + 0,23 µUI/ml
r = 0,985

Moyennes :
6,4 µUI/ml (IMMULITE 2000)
6,5 µUI/ml (IMMULITE)

Assistance technique

Veuillez contacter votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

Le Système Qualité de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. est certifié ISO 13485.

Italiano

IMMULITE 2000 TSH di Terza Generazione

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con gli analizzatori dei sistemi IMMULITE® 2000 per la misurazione quantitativa della tireotropina (TSH) nel siero. Le misurazioni dell'ormone tireostimolante prodotto dall'ipofisi anteriore vengono utilizzate nella diagnosi di disturbi tiroidei e ipofisari.

Codice:
L2KTS2 (200 test)
L2KTS6 (600 test)

Codice del Test: **TSH** Colore: **Rosso**

Riassunto e Spiegazione del Test

L'Ormone Stimolatore della Tiroide (Tireotropina, TSH) è un ormone ipofisario che, agendo sulla ghiandola tiroidea, svolge un ruolo di primaria importanza nel mantenimento dei livelli normali di iodotironine, T4 e T3, nel circolo sanguigno. Il TSH è controllato dal feedback negativo determinato dalla T4 e dalla T3 circolanti e dall'ormone ipotalamico TRH (thyrotropin releasing hormone). Il TSH presenta un ritmo circadiano minore.

Nell'ipotiroidismo primario, dove si verifica una diminuzione della produzione di ormoni tiroidei, il livello di TSH è fortemente elevato. Nell'ipotiroidismo secondario o terziario, d'altra parte, dove la produzione dell'ormone tiroideo è bassa, come conseguenza di lesioni ipofisarie o ipotalamiche, il livello di TSH è di norma basso. Nell'ipertiroidismo, il livello di TSH è tipicamente soppresso a livelli al di sotto della normalità. Meno frequentemente, questa condizione può essere il risultato di un'iperstimolazione della tiroide dovuta a lesioni ipotalamiche o ipofisarie, nel qual caso il livello di TSH è di norma più elevato.

La misurazione del TSH circolante è utilizzata quale test preliminare per la diagnosi differenziale di ipotiroidismo e quale ausilio nel monitoraggio dell'adeguatezza della terapia sostitutiva dell'ormone tiroideo. E' necessario ricordare che l'ipertiroidismo e l'ipotiroidismo presentano gradi diversi di gravità. Ciò implica che non tutti i pazienti affetti da queste patologie presentano livelli di TSH molto al di fuori dei livelli rilevati in soggetti eutiroidei. D'altra parte, i livelli di TSH cadono al di fuori del range di riferimento degli eutiroidei nella primissima fase della malattia, quando la patologia è ancora a livello subclinico e i livelli degli ormoni tiroidei rimangono entro i range di riferimento degli eutiroidei.

Alcuni studi hanno rilevato che I pazienti in apparente stato di buona salute con un TSH > 2,0 µIU/mL corrono un rischio maggiore di sviluppare patologie tiroidee nel corso dei seguenti 20 anni. E' stato suggerito che il limite più alto del range di riferimento del siero TSH eutiroideo venga ridotto a 2,5 µIU/mL perchè > 95% dei volontari normalmente eutiroidei rigorosamente monitorizzati hanno i valori di TSH sierico tra 0,4 e 2,5 µIU/mL.[7]

Principio del Dosaggio

IMMULITE 2000 TSH di Terza Generazione è un dosaggio immunometrico in chemiluminescenza in fase solida a doppio sito.

Cicli d'incubazione: 1 × 60 minuti

Prelievo dei Campioni

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

I campioni emolizzati posson indicare il trattamento non idoneo del campione prima dell'arrivo al laboratorio; per questo

motivo, i risultati devono essere interpretati con prudenza.

I campioni di plasma EDTA non devono essere utilizzati.

La centrifugazione dei campioni di siero prima che la coagulazione sia completa può produrre fibrina. Per evitare risultati errati dovuti alla presenza di fibrina, assicurarsi che il processo di coagulazione sia completo prima di centrifugare i campioni. Alcuni campioni, in modo particolare quelli di pazienti sottoposti a terapia con anticoagulanti, possono richiedere tempi di coagulazione più lunghi.

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. L'IMMULITE 2000 TSH di Terza Generazione non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume richiesto: 75 µL di siero

Conservazione: 5 giorni a 2–8°C o 1 mese a –20°C.[1]

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.



ATTENZIONE! POTENZIALE PERICOLO BIOLOGICO
Contiene materiale di origine umana. Ciascuna donazione di sangue o componenti ematici umani è stata testata con metodi approvati dalla FDA per rilevare la presenza di anticorpi al virus dell'immunodeficienza umana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2), nonché per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e gli anticorpi al virus dell'epatite C (HCV). I risultati del test sono stati negativi (non ripetutamente reattivi). Nessun test offre assicurazione completa che questi o altri agenti infettivi siano assenti; questo materiale va trattato utilizzando le corrette prassi di laboratorio e le precauzioni universali.[8-10]

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale portatore e trasmettitore di agenti patogeni.

H412	Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.
P273, P501	Non disperdere nell'ambiente. Smaltire il prodotto e il contenitore in conformità con tutte le disposizioni locali, regionali e nazionali.
	Contiene: 2-metil-2H-isotiazol-3-one; Calibratori TSH

Reagenti: Conservare a 2–8°C. Scartare in conformità alle leggi applicabili.

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati dal sangue umano sono stati testati con esito negativo per la Sifilide, gli Anticorpi anti-HIV 1 e 2, l'Antigene di Superficie dell'Epatite B e 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.

Sottostrato chemiluminescente: Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce del sole diretta. (Vedere l'inserimento.)

Acqua: Utilizzare 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 TSH (L2TS12)
Con codice a barre. 200 biglie coattate con un anticorpo monoclonale murino anti-TSH. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KTS2: 1 confezione
L2KTS6: 3 confezioni

Porta Reagente TSH (L2TSA2)
Con codice a barre. 23 mL fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata ad un anticorpo policonale di capra anti-TSH in un tampone (con conservanti), dispensata in maniera eguale nella

camera A e B. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KTS2: 1 Porta Reagente
L2KTS6: 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.

Calibratori TSH (LTSL, LTSH)
Due flaconi (Basso ed Alto) di TSH liofilo in una matrice di tampone sierico. Ricostituire ogni flacone con **4,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Lasciar riposare per 30 minuti, quindi mescolare agitando delicatamente o capovolgendo il flacone. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo la ricostituzione o a –20°C per 6 mesi.

L2KTS2: 1 set
L2KTS6: 2 set

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste sulle provette delle aliquote (fornite col kit) cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore.

Componenti del kit forniti separatamente

Diluente del TSH (L2TSZ)
Per la diluizione interna dei campioni a concentrazione elevata. 25 mL di una matrice/tampone di siero priva di TSH concentrata pronta all'uso.
Conservazione: 30 giorni (dopo l'apertura) a 2–8°C o 6 mesi (in aliquote) a –20°C.

Vengono fornite le etichette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare una etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm, cosicchè il codice a barre possa essere letto dal lettore interno.
L2TSZ: 3 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 × 100 mm) per Diluente del Campione
L2ZC: 250 Tappini per Provette del Diluente del Campione

LTGCM: Controllo per il TSH di Terza Generazione (livello unico, controllo basso)

Materiali richiesti
Acqua distillata o deionizzata; provette; controlli

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 4 settimane

Controllo di Qualità: Per la frequenza del controllo di qualità seguire le normative in vigore o i requisiti di accreditamento.

Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (Alto e Basso) di TSH.

Siemens Healthcare Diagnostics consiglia l'utilizzo di materiali di controllo della qualità disponibili in commercio con almeno 2 livelli (bassi e alti). Un livello soddisfacente di prestazioni si raggiunge quando i valori dell'analita ottenuti rientrano nei range di accettabilità del Controllo per il sistema o nei range stabiliti all'interno del laboratorio attraverso un programma appropriato di valutazione del controllo di qualità.

Valori Attesi

Data l'affinità con il TSH di Terza Generazione IMMULITE (vedi "Confronto di Metodi") ci si attende che il dosaggio abbia gli stessi range di riferimento.

Adulti eutiroidei: 0,4–4 µIU/mL

I livelli di TSH nell'ipertiroidismo puro sono tipicamente inferiori a 0,01 µIU/mL. Valori tra 0,01 µIU/mL e 0,4 µIU/mL devono essere ulteriormente monitorati poiché possono indicare un ipertiroidismo borderline o possono essere dovuti a patologie non tiroidee gravi (NTI) o a terapia acuta con farmaci.[1]

Popolazione pediatrica: sono stati stabiliti gli intervalli di riferimento per la popolazione pediatrica (bambini e

adolescenti) per il dosaggio IMMULITE TSH di Terza Generazione in conformità alle linee guida CLSI EP28-A3C.[11]

Per l'analisi dei dati, la popolazione è stata divisa in tre sottogruppi in base all'età:

- Neonati: pazienti con età 1–23 mesi
- Bambini: pazienti con età 2–12 anni
- Adolescenti: pazienti con età 13–20 anni

È stato utilizzo un approccio non parametrico per stabilire gli intervalli di riferimento per bambini e adolescenti quando sono stati calcolati i percentili 2,5 e 97,5 della distribuzione dei valori. Per la popolazione infantile, è stata utilizzata una misura robusta della posizione e della diffusione sviluppata da Horn e Pesce per la stima degli intervalli di riferimento dei percentili 2,5 e 97,5, con il ridimensionamento del campione più piccolo.[11–13]

Gli intervalli di riferimento forniti in dettaglio in base ai gruppi di età e numeri di campioni possono essere osservati nella tabella Intervalli di riferimento.

Intervalli di riferimento pediatrici IMMULITE 2000 TSH di Terza Generazione

Gruppo di età	*n*	Convenzionale (µIU/mL)	SI (mIU/L)
Neonati* (1–23 mesi)	90	0,83–6,5	0,83–6,5
Bambini (2–12 anni)	195	0,58–4,1	0,58–4,1
Adolescenti (13–20 anni)	148	0,39–4,0	0,39–4,0

* Il limite superiore (97,5 percentile) dell'intervallo di riferimento pediatrico è risultato essere 6,5 µIU/mL (mIU/L). I dati di questa popolazione neonatale (n = 90) hanno dimostrato una distribuzione fortemente deviata verso destra; pertanto, la stima del limite superiore dell'intervallo di riferimento presenta una certa incertezza con una probabilità del 90% che il limite superiore dell'intervallo di riferimento possa essere compreso nell'intervallo tra 5,6 e 7,7 µIU/mL (mIU/L).

Detti valori dovrebbero essere considerati solo come *suggerimento*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

Limiti

Il dosaggio non è stato concepito per lo screening dei neonati.

Come con qualsiasi misurazione per immuno-rilevazione di un peptide, varianti genetiche estremamente rare possono presentare vari gradi di rilevamento.

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

Vedere le tabelle e le grafiche per i dati *rappresentativi* delle prestazioni della prova. I risultati sono espressi in µIU/mL. (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 75 µIU/mL (WHO 2° IRP 80/558)

Sensibilità analitica: 0,004 µIU/mL

Effetto Gancio a concentrazioni elevate: Nessuno fino a 14 000 µIU/mL

Precisione: Sono stati dosati campioni in doppio in 20 giorni, due sedute al giorno, per un totale di 40 sedute ed 80 replicati. (Vedi la Tabella "Precision".)

Linearità: Sono stati dosati campioni in varie forme diluite. (Vedi la Tabella "Linearity" per dati rappresentativi.)

Recupero: Sono stati dosati campioni) 1:19 ai quali sono state aggiunte tre soluzioni di TSH (273, 1387 e 3290 µIU/mL. (Vedi la Tabella “Recovery” per dati rappresentativi.)

Specificità: L'anticorpo è altamente specifico per il TSH (Vedi la Tabella “Specificity”.)

Bilirubina: La presenza di bilirubina in concentrazioni fino a 200 mg/L non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Biotina: I campioni che contengono biotina a una concentrazione di 1500 ng/mL dimostrano una variazione nei risultati inferiore o pari al 10%. Le concentrazioni di biotina superiori a questo valore potrebbero portare a risultati non corretti dei campioni dei pazienti.

Emolisi: La presenza di globuli rossi impaccati in concentrazioni fino a 30 µL/mL non ha effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Lipemia: La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 5000 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Tipo di Campione Alternativo: Per determinare l'effetto di campioni alternativi, è stato prelevato del sangue da 10 volontari in provette semplici, eparinizzate, EDTA e Becton Dickinson vacutainer SST. Tutti i campioni sono stati dosati con il dosaggio IMMULITE 2000 TSH di Terza Generazione. Mediante regressione lineare:

(Eparina) = 0,95 (Siero) + 0,06 µIU/mL
r = 0,999

(EDTA) = 0,64 (Siero) + 0,02 µIU/mL
r = 0,998

(SST) = 0,99 (tubi semplici) – 0,11 µIU/mL
r = 0,991

Valore medio:
1,65 µIU/mL (Siero)
1,62 µIU/mL (Eparina)
1,07 µIU/mL (EDTA)
1,52 µIU/mL (SST)

Comparazione di Metodi: Il dosaggio è stato comparato al TSH di Terza Generazione IMMULITE su 106 campioni di pazienti. (Gamma di concentrazione: da 0,006 fino a 60 µIU/mL. Vedere la grafica.) Mediante regressione lineare:

(IML 2000) = 0,94 (IML) + 0,23 µIU/mL
r = 0,985

Valore medio:
6,4 µIU/mL (IMMULITE 2000)
6,5 µIU/mL (IMMULITE)

Assistenza Tecnica

Contattare il distributore nazionale.

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. è certificato ISO 13485.

Português

TSH 3a Geração

Utilização: Para diagnóstico *in vitro* com os Sistemas Analisadores IMMULITE® 2000 — para o doseamento quantitativo da tirotrofina (TSH) em soro. As medições da hormona estimulante da tiróide produzida pela pituitária anterior são utilizadas no diagnóstico de distúrbios da tiróide ou pituitária.

Números de catálogo:
L2KTS2 (200 testes)
L2KTS6 (600 testes)

Código do teste: **TSH** Cor: **Vermelho**

Sumário e explicação do teste

A hormona estimulante da tiróide ou tirotrofina (thyroid stimulating hormone — TSH) é uma hormona pituitária que, através da sua acção sobre a glândula da tiróide, assume um papel primordial na manutenção de níveis séricos normais das iodotironinas T4 e T3. A TSH é controlada por “feedback negativo” por parte do T4 e do T3 e pela hormona hipotalâmica libertadora da secreção de TSH (TRH — Thyrotropin Releasing Hormone). TSH exibe um pequeno ritmo circadiano, devendo ser levada em conta a hora da colheita.

No hipotiroidismo primário, situação na qual a produção das hormonas da tiróide se encontra comprometida, o nível de TSH é tipicamente muito elevado. No hipotiroidismo secundário ou terciário, situação em que a produção das hormonas da tiróide é baixa devido à presença de lesões pituitárias ou hipotalâmicas, o nível da TSH é geralmente baixo. No hipertiroidismo o nível de TSH encontra-se geralmente suprimido para níveis sub-normais. Em casos menos frequentes, este quadro clínico pode resultar da hiper-estimulação da tiróide devido à

presença de lesões hipotalâmicas ou pituitárias, casos em que os níveis de TSH se encontram normalmente aumentados.

O doseamento da TSH sérica tem sido utilizado como um teste primário no diagnóstico diferencial do hipotiroidismo e como ajuda na monitorização da terapêutica de substituição das hormonas da tiróide. Ter em atenção que o hipertiroidismo e o hipotiroidismo são situações graduais. Isto implica que nem todos os doentes nestas categorias de doenças tenham os níveis de TSH fora da zona eutiroideia normal. Por outro lado, os níveis de TSH saem da zona de referência eutiroideia em fases muito precoces do desenvolvimento da doença toroideia, enquanto que a doença ainda se apresenta subclínica e os níveis das hormonas tiroideias se encontram em valores eutiroideios normais.

Estudos de investigação têm mostrado que indivíduos aparentemente saudáveis com TSH > 2,0 µIU/mL têm um risco acrescido de desenvolver doenças da tiróide nos próximos 20 anos. Isto sugere que o limite superior para o TSH no soro para eutiroideos sera reduzida para 2,5 µIU/mL porque mais de 95% dos voluntários testados eutiroideos têm valores séricos de TSH entre 0,4 e 2,5 µIU/mL[7].

Princípio do procedimento

A TSH 3a Geração IMMULITE 2000 é um ensaio imunométrico em fase sólida quimioluminescente de duas voltas.

Ciclos de incubação: 1 × 60 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.

O plasma EDTA não deve ser usado como um tipo de amostra.

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, incluíndo gel ou barreiras fisicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 TSH 3a Geração não foram ainda testados com todas as possiveis 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: 75 µL de soro

Estabilidade: 5 dias a 2–8°C, ou 1 mês a –20°C[1].

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.



PRECAUÇÃO! POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO
Contém material de origem humana. Cada dádiva de sangue ou componente de sangue humano foi testada pelos métodos aprovados pela FDA quanto à presença de anticorpos dos vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e tipo 2 (VIH-2), bem como do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e dos anticorpos do vírus da hepatite C (VHC). Os resultados dos testes foram negativos (não repetidamente reativos). Nenhum teste oferece total garantia de que estes ou outros agentes infeciosos estejam ausentes; este material deve ser manuseado de acordo com as boas práticas laboratoriais e precauções universais[8-10].

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.

H412 **P273, P501**	Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. Evitar a libertação para o ambiente. Eliminar o conteúdo e o recipiente em conformidade com todos os regulamentos locais, regionais e nacionais. **Contém:** 2-metil-2H-isotiazol-3-ona; Ajustes TSH

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.

A azida sódica foi adicionada como conservante a concentrações inferiores a 0,1 g/dL. Quando eliminar o produto, utilize água em abundância para evitar a acumulação de azidas metálicas potencialmente explosivas nas canalizações de chumbo e cobre.

Substrato quimioluminescente: Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula do substrato).

Água: Use água destilada ou deionizada.

Materiais fornecidos

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. As etiquetas no interior das caixas são necessárias para o ensaio.

Embalagem de pérolas de TSH (L2TS12)
Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com anticorpo monoclonal de rato anti-TSH. Estável até à data de validade a 2–8°C.

L2KTS2: 1 embalagem
L2KTS6: 3 embalagens

Embalagem de reagentes de TSH (L2TSA2)
Com código de barras. 23 mL de fosfatase alcalina (intestino de bezerro) conjugada com anticorpo anti-TSH policlonal de cabra em tampão (com conservante), divididos de igual modo pelas câmaras A e B. Estável até à data de validade a 2–8°C.

L2KTS2: 1 embalagem
L2KTS6: 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 TSH (LTSL, LTSH)
Contém dois frascos (nível alto e baixo) de TSH humana numa matriz mista de soro e tampão. Reconstituir cada frasco com **4,0 mL** de água. Deixe repousar por 30 minutos, e então misture por inversão ou movimentos *gentis*. Estável a 2–8°C por 30 dias após reconstituição, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

L2KTS2: 1 conjunto
L2KTS6: 2 conjuntos

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas da alíquota apropriadas (fornecidas com o Dispositivo) em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Diluente de amostra para TSH (L2TSZ)
Para diluição de amostras no aparelho. 25 mL de concentrado pronto para uso, consistindo de matriz em tampão de soro livre de TSH. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.
L2TSZ: 3 etiquetas

L2SUBM: Substrato quiomioluminescente
L2PWSM: Solução de lavagem
L2KPM: Kit de limpeza do pipetador
LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)
L2ZT: 250 Tubos de diluente da amostra (16 ×100 mm)

L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

LTGCM: Controlo IMMULITE para TSH de 3ª Geração (controlo baixo de um único nivel)

Também necessário
Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos.

Procedimento do doseamento

Ter em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000.

Consultar o Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000 relativamente aos procedimentos de preparação, diluição, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável: 4 semanas

Amostras de controlo de qualidade: Observe os regulamentos governamentais ou os requisitos de acreditação quanto à frequência do controlo de qualidade.

Utilize controlos ou “pools” com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de TSH.

A Siemens Healthcare Diagnostics recomenda a utilização de materiais de controlo de qualidade comercialmente disponíveis com pelo menos 2 níveis (baixo e alto). É alcançado um nível de desempenho satisfatório quando os valores dos analitos obtidos estiverem dentro dos Limites de Controlo Aceitáveis para o sistema ou dentro dos limites estabelecidos e determinados pelo regime de controlo de qualidade laboratorial interno adequado.

Valores de Referência

Baseado na sua relação com o TSH 3a Geração IMMULITE (ver compara ção de métodos), pode esperar-se que o doseamento tenha valores de referência indênticos.

Adulto em eutiroidismo: 0,4–4 µIU/mL

Os niveis de TSH num franco hipertiroidismo são tipicamente menores que 0,01 µIU/mL. Os valores entre 0,01 µIU/mL e 0,4 µIU/mL devem ser avaliados, porque podem indicar uma situação no limiar do hipertiroidismo, ou serem devidos a uma doença grave não tiroideia (NTI) ou uma intoxicaçãopor drogas terapeuticas[1].

Pediátrico: Os intervalos de referência para a população pediátrica (crianças e adolescentes) foram estabelecidos para o ensaio IMMULITE TSH 3a Geração em conformidade com a norma EP28-A3C do CLSI[11].

Para fins de análise dos dados, a população foi dividida em três subgrupos etários:

- Bebés: indivíduos com idades entre 1–23 meses
- Crianças: indivíduos com idades entre 2–12 anos
- Adolescentes: indivíduos com idades entre 13–20 anos

Foi utilizada uma abordagem não paramétrica para estabelecer os intervalos de referência para as crianças e adolescentes, tendo sido calculados os percentis 2,5 e 97,5 da distribuição dos valores. Para a população de bebés, foi utilizada uma medida robusta de posição e dispersão, conforme desenvolvida por Horn e Pesce, para calcular os intervalos de referência do percentil 2,5 e 97,5, para acomodar um tamanho de amostra mais pequeno[11–13].

Os intervalos de referência detalhados por grupo etário e número de amostras são apresentados na tabela de Intervalos de referência.

Intervalos de referência pediátricos para IMMULITE 2000 TSH 3a Geração

Grupo etário	*n*	Convencional (µIU/mL)	SI (mIU/L)
Bebés* (1–23 meses)	90	0,83–6,5	0,83–6,5
Crianças (2–12 anos)	195	0,58–4,1	0,58–4,1
Adolescentes (13–20 anos)	148	0,39–4,0	0,39–4,0

* O limite superior do intervalo de referência (percentil 97,5) para bebés foi determinado como sendo 6,5 µIU/mL (mIU/L). Os dados obtidos a partir desta população de bebés (n = 90) demonstraram uma distribuição altamente enviesada para a direita; por conseguinte, a estimativa do limite superior do intervalo de referência apresenta alguma

incerteza com uma probabilidade de 90% de o limite superior do intervalo de referência se situar entre 5,6 e 7,7 µIU/mL (mIU/L).

Estes valores devem ser considerados apenas como *directrizes*. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores.

Limitações

O ensaio não é apropriado para utilização de amostras em "disco impregnado"para despiste de recém-nascidos.

Tal como com qualquer medição para imuno-reconhecimento de um péptido, variantes genéticas extremamente raras podem exibir graus de detecção variáveis.

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 dados que possam correlacionar-se.

Características do ensaio

Consulte Tabelas e Gráficos para dados *representativos* do desempenho do doseamento. Os resultados são apresentados em µIU/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.)

Calibração: Até 75 µIU/mL
(WHO 2nd IRP 80/558)

Sensibilidade Analítica: 0,004 µIU/mL

Efeito Hook de Alta Dose:
nenhum até 14 000 µIU/mL

Precisão: As amostras foram doseadas em duplicado durante 20 dias, 2 ensaios por dia, perfazendo um total de 40 ensaios e 80 réplicas. (Ver a tabela de "Precision".)

Linearidade: As amostras 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 três soluções TSH (273, 1387 e 3290 µIU/mL) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

Especificidade: O doseamento é específico para o TSH. (Ver tabela de "Specificity".)

Bilirrubina: A presença de bilirrubina em concentrações até 200 mg/L não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Biotina: As amostras que contenham biotina a uma concentração de 1500 ng/ml demonstram uma alteração igual ou inferior a 10% nos resultados. Concentrações de biotina superiores a esta poderão originar resultados incorretos para as amostras de doentes.

Hemolise: A Presença de eritrocitos em concentrações até 30 µL/mL não tem efeito no resultado, dentro da precisão do ensaio.

Lipemia: A presença de triglicéridos em concentrações até 5000 mg/dL não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Tipo de amostra alternativa: Para determinar o efeito de amostras alternatives, foi colhido sangue de 10 voluntários em tubos secos, com EDTA, heparinizados e tubos de vacum SST da Becton Dickinson. Todas as amostras foram testadas através do procedimento IMMULITE 2000 TSH 3a Geração. Regressão linear:

(Heparina) = 0,95 (Soro) + 0,06 µIU/mL
r = 0,999

(EDTA) = 0,64 (Soro) + 0,02 µIU/mL
r = 0,998

(SST) = 0,99 (tubos simples) – 0,11 µIU/mL
r = 0,991

Médias:
1,65 µIU/mL (Soro)

1,62 µIU/mL (Heparina)
1,07 µIU/mL (EDTA)
1,52 µIU/mL (SST)

Comparação de métodos: O doseamento foi comparado com o TSH 3a Geração IMMULITE em 106 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 0,006 a 60 µIU/mL. Ver gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 0,94 (IML) + 0,23 µIU/mL
r = 0,985

Médias:
6,4 µIU/mL (IMMULITE 2000)
6,5 µIU/mL (IMMULITE)

Assistência Técnica

Contacte o seu distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE is a trademark of
Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2018 Siemens Healthcare Diagnostics.
All rights reserved.

Made in: UK

Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

CE

2018-03-15

PIL2KTS – 22

cc#EU23262, cc#EU23262A, cc#EU23343

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	**En**	English
Erklärung der Symbole	**De**	Deutsch
Descripción de los símbolos	**Es**	Español
Explication des symboles	**Fr**	Français
Definizione dei simboli	**It**	Italiano
Descrição dos símbolos	**Pt**	Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits : / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:

Symbol Definition

IVD

En: *In vitro* diagnostic medical device
De: Medizinisches Gerät zur *in vitro* Diagnose
Es: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
Fr: Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
It: Dispositivo medico per diagnostica *in vitro*
Pt: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

REF

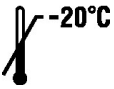
En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo

En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante

EC REP

En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia

Symbol	Definition
CE	**En:** CE Mark **De:** CE-Kennzeichen **Es:** Marca CE **Fr:** Marque CE **It:** Marchio CE **Pt:** Marca CE
CE 0088	**En:** CE Mark with identification number of notified body **De:** CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle **Es:** Marca CE con número de identificación del organismo notificado **Fr:** Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié **It:** Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato **Pt:** Marca CE, com número de identificação do organismo notificado
	**En:** Consult instructions for use **De:** Bedienungshinweise beachten **Es:** Consulte las instrucciones de uso **Fr:** Consulter le mode d'emploi **It:** Consultare le istruzioni per l'uso **Pt:** Consulte as instruções de utilização
	**En:** Caution! Potential Biohazard **De:** Vorsicht! Biologisches Risikomaterial **Es:** ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial **Fr:** Avertissement ! Risque biologique potentiel **It:** Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico **Pt:** Atenção! Potenciais Riscos Biológicos
	**En:** Temperature limitation (2–8°C) **De:** Temperaturgrenze (2–8°C) **Es:** Limitación de temperatura (2–8°C) **Fr:** Limites de température (2–8°C) **It:** Limiti di temperatura (2–8°C) **Pt:** Limites de temperatura (2–8°C)

Symbol	Definition
	**En:** Upper limit of temperature (≤ -20°C) **De:** Obere Temperaturgrenze (≤ -20°C) **Es:** Límite superior de temperatura (≤ -20°C) **Fr:** Limite supérieure de température (≤ -20°C) **It:** Limite superiore di temperatura (≤ -20°C) **Pt:** Limite máximo de temperatura (≤ -20°C)
	**En:** Lower limit of temperature (≥ 2°C) **De:** Mindesttemperatur (≥ 2°C) **Es:** Límite inferior de temperatura (≥ 2°C) **Fr:** Limite inférieure de température (≥ 2°C) **It:** Limite inferiore di temperatura (≥ 2°C) **Pt:** Limite mínimo de temperatura (≥ 2°C)
	**En:** Do not freeze (> 0°C) **De:** Nicht einfrieren (> 0°C) **Es:** No congelar (> 0°C) **Fr:** Ne pas congeler (> 0°C) **It:** Non congelare (> 0°C) **Pt:** Não congelar (> 0°C)
	**En:** Do not reuse **De:** Nicht zur Wiederverwendung **Es:** No reutilizar **Fr:** Ne pas réutiliser **It:** Non riutilizzare **Pt:** Não reutilizar
	**En:** Keep away from sunlight **De:** Vor Sonneneinstrahlung schützen **Es:** Proteger de la luz solar **Fr:** Maintenir hors de portée de la lumière du soleil **It:** Non esporre alla luce del sole **Pt:** Manter afastado da luz solar
LOT	**En:** Batch code **De:** Chargenbezeichnung **Es:** Número de lote **Fr:** Numéro de code du lot **It:** Codice lotto **Pt:** Código de lote

Symbol	Definition	Symbol	Definition
	**En:** Contains sufficient for (n) tests **De:** Es reicht für (n) Tests **Es:** Contiene suficiente para (n) pruebas **Fr:** Contient du matériel suffisant pour (n) tests **It:** Contiene materiale sufficiente per (n) test **Pt:** Contém o suficiente para (n) testes	BEAD PACK	**En:** Bead Pack **De:** Kugel-Container **Es:** Cartucho de bolas **Fr:** Cartouche de billes **It:** Contenitore di biglie **Pt:** Embalagem de esferas
2008-01	**En:** Date format (year-month) **De:** Datumsformat (Jahr-Monat) **Es:** Formato de fecha (año-mes) **Fr:** Format de la date (année-mois) **It:** Formato data (anno-mese) **Pt:** Formato de data (ano-mês)	TEST UNIT	**En:** Test Unit **De:** Testeinheit **Es:** Unidades de análisis **Fr:** Unité de test **It:** Test Unit **Pt:** Unidades de Teste
	**En:** Use by **De:** Verwendbar bis **Es:** Fecha de caducidad **Fr:** A utiliser avant **It:** Usare entro **Pt:** Usar até	REAG WEDGE REAG WEDGE A REAG WEDGE B REAG WEDGE D	**En:** Reagent Wedge **De:** Reagenzbehälter **Es:** Vial de reactivo **Fr:** Cartouche à réactif **It:** Porta Reagente **Pt:** Embalagem de Reagente
	**En:** Health Hazard **De:** Gesundheitsgefährdung **Es:** Peligro para la salud **Fr:** Dangereux pour la santé **It:** Pericolo per la salute **Pt:** Perigo para a saúde	ADJUSTOR	**En:** Adjustor **De:** Kalibrator **Es:** Ajustador **Fr:** Ajusteur **It:** Calibrator **Pt:** Ajuste
	**En:** Exclamation Mark **De:** Ausrufezeichen **Es:** Signo de exclamación **Fr:** Point d'exclamation **It:** Punto esclamativo **Pt:** Ponto de exclamação	ADJUSTOR L	**En:** Adjustor, low **De:** Kalibrator, niedrig **Es:** Ajustador, bajo **Fr:** Ajusteur, bas **It:** Calibrator, basso **Pt:** Ajuste, baixo
	**En:** Corrosion **De:** Korrosion **Es:** Corrosión **Fr:** Corrosion **It:** Corrosione **Pt:** Corrosão	ADJUSTOR H	**En:** Adjustor, high **De:** Kalibrator, hoch **Es:** Ajustador, alto **Fr:** Ajusteur, haut **It:** Calibrator, alto **Pt:** Ajuste, alto
	**En:** Skull and Crossbones **De:** Totenkopf mit gekreuzten Knochen **Es:** Calavera y tibias cruzadas **Fr:** Tête de mort sur tibias croisés **It:** Teschio e tibie incrociate **Pt:** Caveira sobre tíbias cruzadas	ADJUSTOR AB	**En:** Adjustor Antibody **De:** Kalibrator Antikörper **Es:** Anticuerpo Ajustador **Fr:** Anticorps de l'Ajusteur **It:** Anticorpo del Calibratore **Pt:** Anticorpo do Ajuste
	**En:** Environment **De:** Umwelt **Es:** Medio ambiente **Fr:** Environnement **It:** Ambiente **Pt:** Ambiente		

Symbol	Definition
DIL	**En:** Sample Diluent **De:** Proben-verdünnungsreagenz **Es:** Diluyente para muestras **Fr:** Diluant échantillon **It:** Diluente per Campioni **Pt:** Diluente de Amostra
CONTROL CONTROL 1 CONTROL 2 CONTROL 3	**En:** Control **De:** Kontrolle **Es:** Control **Fr:** Contrôle **It:** Controllo **Pt:** Controlo
CONTROL +	**En:** Positive Control **De:** Positivkontrolle **Es:** Control Positivo **Fr:** Contrôle positif **It:** Controllo positivo **Pt:** Controlo Positivo
CONTROL + L	**En:** Low Positive Control **De:** Schwachpositiv-kontrolle **Es:** Control Positivo bajo **Fr:** Contrôle positif faible **It:** Controllo Positivo Basso **Pt:** Controlo Positivo Baixo
CONTROL –	**En:** Negative Control **De:** Negativkontrolle **Es:** Control Negativo **Fr:** Contrôle négatif **It:** Controllo negativo **Pt:** Controlo Negativo
CONTROL AB	**En:** Control Antibody **De:** Kontroll-Antikörper **Es:** Anticuerpo Control **Fr:** Anticorps du contrôle **It:** Anticorpo di Controllo **Pt:** Anticorpo do Controlo

Symbol	Definition
PRE A PRE B	**En:** Pretreatment Solution **De:** Vorbehandlungs-lösung **Es:** Solución de Pretratamiento **Fr:** Solution de prétraitement **It:** Soluzione di pretrattamento **Pt:** Solução de Pré-tratamento
DITHIOTHREITOL	**En:** Dithiothreitol Solution **De:** Dithiothreitol-Lösung **Es:** Solución de Ditiotreitol **Fr:** Solution de Dithiothreitol **It:** Soluzione di Ditiotreitolo **Pt:** Solução de Ditiotreitol
BORATE-KCN BUF	**En:** Borate-KCN Buffer Solution **De:** Borat-KCN-Puffer **Es:** Solución Tampón Borato-KCN **Fr:** Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium **It:** Soluzione Tampone Borato-KCN **Pt:** Solução Tamponizada de Borato-KCN
Rx Only	**En:** Prescription Device (US Only) **De:** Verschreibungs-pflichtiges Medizinprodukt (nur USA) **Es:** Dispositivo con prescripción (solo EE. UU.) **Fr:** Dispositif sur ordonnance (États-Unis uniquement) **It:** Dispositivo su prescrizione (solo USA) **Pt:** Dispositivo sujeito a receita médica (apenas EUA)