

# IMMULITE®

## AFP

For use on the IMMULITE®  
and IMMULITE® 1000 systems

**SIEMENS**

# IMMULITE®/IMMULITE 1000 AFP

## English

**Intended Use:** For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® and IMMULITE 1000 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 Number: **LKAP1** (100 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.<sup>1,2,3</sup> 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.<sup>8-15</sup> 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.<sup>8-15</sup>

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.<sup>9,16,18,19</sup> During chemotherapy, patients with advanced seminoma and hepatic dysfunction have also presented with elevated serum AFP concentrations.<sup>20</sup> The interpretation of elevated AFP concentrations in patients with seminoma requires special consideration and should assist the clinician in the selection of appropriate therapy.<sup>8,15,21</sup>

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

Serial measurements of serum AFP have been shown to reflect the effectiveness of therapeutic regimens in patients with nonseminomatous testicular tumors.<sup>9,15,17,26,27</sup> 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.<sup>9,15,28,29</sup> The accurate interpretation of post-surgical changes in AFP

concentration requires consideration of its metabolic decay rate.<sup>21,22,24,25</sup> When utilizing AFP for monitoring therapy or disease recurrence during chemotherapy, it should be noted that levels often fall rapidly during chemotherapy, reaching normal levels while tumor masses are still evident.<sup>17,21</sup> In such instances, completion of the planned therapy has been recommended.<sup>21</sup>

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

### **Fetal Open Neural Tube Defects**

AFP is detectable not only in fetal serum, but also in amniotic fluid and maternal serum. A concentration gradient exists such that when the fetal serum AFP level is 2000 kIU/mL, the amniotic fluid AFP (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.<sup>34</sup> The AFAFP concentration peaks at about 12 weeks and the MSAFP peaks at approximately 28–32 weeks gestation.<sup>36</sup> The fall in AFAFP concentration reflects the fall in fetal serum AFP concentration which results from increased fetal size and fluid volume.<sup>34</sup> Elevated levels of MSAFP and 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;<sup>35</sup> pregnancies associated with open NTDs present with elevated AFP levels. Excess AFP gains access to amniotic fluid, and to a lesser extent to the maternal serum, by transudation across the exposed surface of the fetus or across damaged glomeruli.<sup>35,37</sup> These conditions are found in open NTDs including open spina bifida and anencephaly, omphalocele, and congenital nephrosis.<sup>32,38</sup> Additional causes of elevated AFP concentrations

including both maternal and fetal sources are impending spontaneous abortion, fetal distress or death, oligohydramnios, toxemia, gastroschisis, Meckel's syndrome, sacrococcygeal teratoma, Turner's syndrome and maternal hepatic and oncologic disorders.<sup>35</sup>

Recommended protocols for open NTD screening have been published.<sup>33,35</sup> The cutoff levels for maternal serum and amniotic fluid can be chosen to optimize the needs of the populations being tested based upon varying prevalence of open NTDs. Cutoffs commonly utilize multiples of the median of 2.0 or 2.5 for MSAFP and 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.<sup>35</sup>

Elevated MSAFP results are not diagnostic for NTDs and should not be considered a cause for termination of pregnancy. An overlap exists in the distributions of AFP concentrations from pregnancies with and without open NTDs. Closed NTDs, for example, are not usually associated with increased MSAFP or 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 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/IMMULITE 1000 AFP is a solid-phase, two-site sequential chemiluminescent immunometric assay.

**Incubation Cycles:** 2 × 30 minutes

### Specimen Collection

**Serum:** Collect blood by venipuncture<sup>31</sup> 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.

Lipemic samples should be clarified with the help of an ultracentrifuge before assay of serum.

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/IMMULITE 1000 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 (sample cup must contain at least 100 µL more than the total volume required).

**Amniotic Fluid:** 10 µL of prediluted amniotic fluid specimen (sample cup must contain at least 100 µL more than the total volume required).

All amniotic fluid samples must first be diluted 1-in-101 using AFP Sample Diluent, e.g. by adding 10 µL of amniotic fluid to 1.0 mL of AFP Sample Diluent. Results of the diluted sample must be multiplied by the dilution factor to obtain the final AFP concentration.

### 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. The barcode labels are needed for the assay.

#### AFP Test Units (LAP1)

Each barcode-labeled unit contains one bead coated with murine monoclonal anti-AFP. Stable at 2–8°C until expiration date.

**LKAP1:** 100 units

Allow the Test Unit bags to come to room temperature before opening. Open by cutting along the top edge, leaving the ziplock ridge intact. Reseal the bags to protect from moisture.

#### AFP Reagent Wedges (LAPA, LAPB)

Two barcode-labeled wedges.

**LAPA:** one wedge (7.5 mL) of a protein buffer/nonhuman serum matrix.

**LAPB:** one wedge (7.5 mL) of alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to polyclonal rabbit anti-AFP in buffer. Store capped and refrigerated: stable at 2–8°C until expiration date.

Recommended usage is within 30 days after opening when stored as indicated.

**LKAP1:** 1 set

#### AFP Adjustors (LAPL, LAPH)

Two vials (Low and High), 2 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.

**LKAP1:** 1 set

### Kit Components Supplied Separately

#### AFP Sample Diluent (LAPZ)

For the manual dilution of high serum samples and amniotic fluid samples. 25 mL of an AFP-free bovine serum matrix, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

**Analysis of amniotic fluid requires a 1-in-101 dilution of the sample (manual dilution with AFP Sample Diluent).**

**Results of the diluted sample must be multiplied by the dilution factor to obtain the final AFP concentration.**

**LSUBX:** Chemiluminescent Substrate

**LPWS2:** Probe Wash

**LKPM:** Probe Cleaning Kit

**LCHx-y:** Sample Cup Holders (barcoded)

**LSCP:** Sample Cups (disposable)  
**LSCC:** Sample Cup Caps (optional)

Also Required  
 Sample transfer pipets; distilled or deionized water

## Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE and IMMULITE 1000 Operator's Manual.

See the IMMULITE or IMMULITE 1000 Operator's Manual for preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Visually inspect each Test Unit for the presence of a bead before loading it onto the system.

**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 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

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).

<b>IU/mL:</b>	<b>&lt; 5</b>	<b>5–15</b>	<b>15–100</b>	<b>&gt; 100</b>
<b>Males</b>				
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
<b>Females</b>				
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.<sup>8</sup>

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

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

### AFP Values in Maternal Serum and Amniotic Fluid

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

Provided below are medians for *maternal serum* samples, generated using the IMMULITE and IMMULITE 2000 AFP assays, 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 cannot 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. All data, except comparisons between the IMMULITE and IMMULITE 1000 analyzers, were generated on the IMMULITE analyzer. Results are expressed in IU/mL. Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected from testicular cancer patients.

### Conversion Factor:

IU/mL × 1.21 → ng/mL

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

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

**High-dose Hook:** None up to 450,000 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 (9.8, 31 and 67 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):** A small but (by *t*-test) statistically significant effect. (See "Bilirubin" table.)

**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 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.

## Method Comparison – Testicular

**Cancer Studies:** The assay was compared to a legally marketed assay (Kit C), at two clinical sites. At the first (in the northwestern United States), a total of 264 specimens were evaluated, including samples from male patients with **nonseminomatous testicular cancer** and other malignant and nonmalignant conditions, as well as samples from a few female patients. The results were compared qualitatively, relative to cutoffs based on the stated 99th percentiles for healthy males — namely, 5 IU/mL for IMMULITE, and 8.9 ng/mL (7.36 IU/mL) for Kit C.

Kit C	IMMULITE AFP		Relative Sensitivity (95% CI)	Relative Specificity (95% CI)
	Positive	Negative		
Positive	74	4	94.9%	97.3%
Negative	5	181	(87.4–98.6%)	(93.8–99.1%)

Agreement: 96.6%

At the second site (in the southern United States), a total of 213 specimens were studied, including samples from male patients with seminomatous and nonseminomatous **testicular cancer**, and other malignant conditions, as well as samples from a few female patients.



Kit C	IMMULITE AFP		Relative Sensitivity (95% CI)	Relative Specificity (95%CI)
	Positive	Negative		
Positive	62	3	95.4%	97.3%
Negative	4	144	(87.1–99.0%)	(93.2–99.3%)

Agreement: 96.7%

The 424 results from the two sites which were within range by both assays were also compared by linear regression analysis:

(IML) = 0.83 (Kit C) – 0.17 IU/mL  
 r = 0.99  
 n = 424

95% Confidence Interval (CI)	Slope	Intercept
Lower	0.81	–0.65
Upper	0.84	0.31

### Method Comparison – Neural Tube

**Defect Studies:** In two separate clinical studies conducted in the United States, IMMULITE 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.

(IML) = 0.83 (Kit B) + 6.51 IU/mL  
 r = 0.97  
 n = 1006

95% Confidence Interval (CI)	Slope	Intercept
Lower	0.82	5.93
Upper	0.85	7.09

(IML) = 0.87 (Kit A) + 2.72 IU/mL  
 r = 0.96  
 n = 346

95% Confidence Interval (CI)	Slope	Intercept
Lower	0.84	1.64
Upper	0.89	3.79

In one of the studies above, IMMULITE AFP results were also compared to Kit B in a linear regression for **amniotic fluid** samples, in the range from nondetectable to 173 kIU/mL\*.

(IML) = 0.78 (Kit B) + 0.17 kIU/mL  
 r = 0.99  
 n = 185

95% Confidence Interval (CI)	Slope	Intercept
Lower	0.76	–0.19
Upper	0.79	0.53

\* Amniotic fluid samples were diluted 1-in-101 off-line before they were tested by the IMMULITE instrument.

The assay was also compared to IMMULITE 2000 AFP on amniotic fluid samples, in the range from approximately 3 to 20 kIU/mL\*. (See “Method Comparison 1” 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 off-line before they were tested by the IMMULITE instrument.

The assay was also compared to IMMULITE 2000 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 = 13:

Gestational Week	% > 2.0 MoM	% > 2.5 MoM	% > 3.0 MoM
15–20	92.3%	69.2%	69.2%
95% CI for All Samples	64.0%–99.8%	38.6%–90.9%	38.6%–90.9%

### Clinical Specificity for Maternal Serum:

Gestational Week	n	% ≤ 2.0 MoM	% ≤ 2.5 MoM	% ≤ 3.0 MoM
15	173	96.0%	98.8%	98.8%
16	411	98.1%	99.3%	99.5%
17	372	96.5%	99.7%	100%
18	204	95.1%	99.0%	100%
19	108	94.4%	99.1%	100%
20	50	100%	100%	100%
15–20	1318	96.7%	99.3%	99.7%
95% CI for All Samples		95.5%–97.6%	98.7%–99.7%	99.2%–99.9%

### Clinical Sensitivity for Amniotic Fluid, n = 10:

Gestational Week	% > 2.0 MoM	% > 2.5 MoM	% > 3.0 MoM
15–20	90.0%	90.0%	90.0%
95% CI for All Samples	55.5%–99.8%	55.5%–99.8%	55.5%–99.8%

### Clinical Specificity for Amniotic Fluid:

Gestational Week	n	% ≤ 2.0 MoM	% ≤ 2.5 MoM	% ≤ 3.0 MoM
15	23	100%	100%	100%
16	39	97.4%	100%	100%
17	25	100%	100%	100%
18	34	94.1%	97.1%	100%
19	33	100%	100%	100%
20	13	100%	100%	100%
15–20	167	98.2%	99.4%	100%
95% CI for All Samples		94.8%–99.6%	96.7%–100%	97.8%–100%

### Method Comparison with Maternal Serum – IMMULITE 1000 vs. IMMULITE:

A total of 110 maternal serum specimens were tested by the IMMULITE/ IMMULITE 1000 AFP assays on the two systems. (See “Method Comparison 2” graph.) By linear regression:

$$(IML\ 1000) = 0.99 (IML) + 0.13\ IU/mL$$

$$r = 0.996$$

Means:

2.88 IU/mL (IML 1000)

2.77 IU/mL (IML)

### Method Comparison with Amniotic Fluid – IMMULITE 1000 vs. IMMULITE:

A total of 91 amniotic fluid specimens were tested by the IMMULITE/ IMMULITE 1000 AFP assays on the two systems. (See “Method Comparison 3” graph.) By linear regression:

$$(IML\ 1000) = 1.00 (IML) - 0.05\ kIU/mL^*$$

$$r = 0.991$$

Means:

11.5 kIU/mL (IML 1000)

11.5 kIU/mL (IML)

\*Amniotic fluid samples were diluted 1-in-101 off-line before they were tested by the IMMULITE and IMMULITE 1000 instruments.

## References

### Testicular Cancer

- Herberman, ed. Immunodiagnosis of cancer. 1979:101.
- Int J Cancer 1971;7:218.
- Cancer Res 1972;32:979.
- Scand J Clin Lab Investig 1956;8:174.
- Acta Unio Internationalis Contra Cancrum 1963;19:80.
- Vopr Med Khim 1964;10:90.
- Int J Cancer 1968;3:364.
- Hum Pathol 1979;10:557.
- Lancet 1976;2:433.
- Adv Cancer Res 1971;14:295.
- Proc Natl Acad Sci USA 1973;70:526.
- Kirkpatrick, ed. Alpha-fetoprotein. 1981:115.
- Cancer 1979;44:984.
- Cancer Res 1975;35:991.
- Cancer 1974;34:1510.
- Med Intelligence 1976;295:1237.
- Cancer 1976;37:215.
- J Urol 1977;118:994.
- Cancer 1978;42:2768.
- J Clin Oncol 1986;4:41.
- Rose, ed. Manual of clinical laboratory immunology. 1986:810.
- Cancer 1981;47:328.
- Urol Clin North Am 1977;4:393.
- Ravitch, ed. Current problems in surgery. 1978:1.
- Cancer 1980;45:1755.
- Pavone-Macaluso, ed. Testicular cancer and other tumors. 1983:63.
- J Urol 1978;119:759.
- Kirkpatrick, ed. Alpha-fetoprotein. 1981:135.
- N Eng J Med 1977;296:693.
- Eur J Clin Chem Biochem 1993;31:517.
- NCCLS H3-A3, 1991.

### Fetal Open Neural Tube Defects

- Brock DJH. Prenatal diagnosis – chemical methods. Br Med Bull 1976;32:16.
- Crandall BF. Alpha-fetoprotein: a review. CRC Crit Rev Clin Lab Sci 1981;Sept:127-85.
- Gitlin D. Normal biology of AFP. Ann NY Acad Sci 1975:259:17-28.
- Haddow JE, et al. Fetal disorders associated with elevated MSAFP values. Foundation Blood Res 1990:1.
- 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.
- 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  $\alpha$ -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](http://www.siemens.com/diagnostics)

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

## Tables and Graphs

### Precision (IU/mL)

	Mean <sup>3</sup>	Within-Run <sup>1</sup>		Total <sup>2</sup>	
		SD <sup>4</sup>	CV <sup>5</sup>	SD	CV
1	0.70	0.047	6.7%	0.059	8.4%
2	2.63	0.195	7.4%	0.217	8.3%
3	12.9	0.63	4.9%	1.04	8.1%
4	32.3	1.46	4.5%	2.65	8.2%
5	45.1	2.48	5.5%	3.69	8.2%
6	60.9	2.81	4.6%	4.22	6.9%
7	187	8.64	4.6%	10.9	5.8%

### Linearity (IU/mL) - Serum

	Dilution <sup>1</sup>	Observed <sup>2</sup>	Expected <sup>3</sup>	%O/E <sup>4</sup>
1	32 in 32 <sup>5</sup>	160	—	—
	16 in 32	80	80	100%
	8 in 32	40	40	100%
	4 in 32	21	20	105%
	2 in 32	11	10	110%
	1 in 32	5.3	5.0	106%
2	64 in 64	184	—	—
	32 in 64	91	92	99%
	16 in 64	48	46	104%
	8 in 64	24	23	104%
	4 in 64	12	11	109%
	2 in 64	6.2	5.7	109%
	1 in 64	3.3	2.9	114%
3	64 in 64	231	—	—
	32 in 64	118	115	103%
	16 in 64	57	58	98%
	8 in 64	29	29	100%
	4 in 64	14	14	100%
	2 in 64	7.3	7.2	101%
	1 in 64	3.5	3.6	97%
4	64 in 64	235	—	—
	32 in 64	114	117	97%
	16 in 64	61	59	103%
	8 in 64	30	29	103%
	4 in 64	16	15	107%
	2 in 64	7.7	7.3	105%
	1 in 64	3.9	3.7	105%

### Linearity (IU/mL) - Amniotic Fluid

	Total Dilution <sup>1</sup>	Observed <sup>2</sup>	Expected <sup>3</sup>	%O/E <sup>4</sup>
1	1 in 100 <sup>5</sup>	138	—	—
	1 in 200	66	69	96%
	1 in 400	35	35	100%
	1 in 800	14	17	82%
	1 in 1600	9.0	8.6	105%
	1 in 3200	4.3	4.3	99%
2	1 in 100	175	—	—
	1 in 200	81	88	92%
	1 in 400	46	44	105%
	1 in 800	23	22	105%
	1 in 1600	12	11	109%
	1 in 3200	6.5	5.5	119%
3	1 in 100	281	—	—
	1 in 200	119	141	85%
	1 in 400	60	70	86%
	1 in 800	31	35	89%
	1 in 1600	16	18	89%
	1 in 3200	8.4	8.8	95%

### Recovery (IU/mL) - Serum

	Solution <sup>1</sup>	Observed <sup>2</sup>	Expected <sup>3</sup>	%O/E <sup>4</sup>
1	—	10.6	—	—
	A	11.4	10.6	108%
	B	12.3	11.6	106%
	C	13.7	13.4	102%
2	—	59	—	—
	A	55	57	96%
	B	58	58	100%
	C	58	59	98%
3	—	117	—	—
	A	112	112	100%
	B	109	113	96%
	C	113	115	98%

### Recovery (IU/mL) - Amniotic Fluid

	Low Amniotic Sample <sup>1</sup>	Spiking High Amniotic Sample <sup>2</sup>	Observed <sup>3</sup>	Expected <sup>4</sup>	%O/E <sup>5</sup>
1	—	—	244	—	—
		A	813	732	111%
		B	1371	1232	111%
		C	1943	2032	96%
2	—	—	4483	—	—
		A	4519	4759	95%
		B	6678	5259	127%
		C	4896	6059	81%
3	—	—	9050	—	—
		A	9054	9098	100%
		B	10,042	9598	105%
		C	10,640	10,398	102%

### Specificity

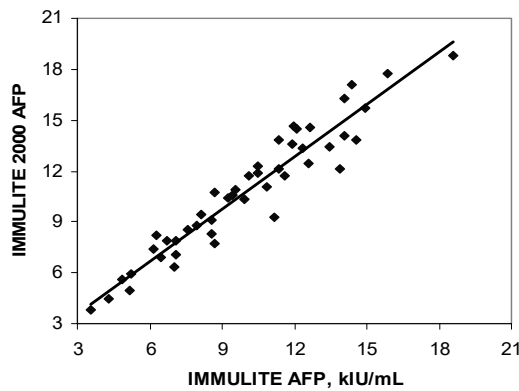
Compound <sup>1</sup>	Amount Added <sup>2</sup>	% Cross reactivity <sup>3</sup>
Human IgG	10 mg/mL	ND
Human Hemoglobin	192 mg/dL	ND
Human Transferrin	400 mg/dL	ND
Human Serum Albumin	60 mg/mL	ND
Cisplatin	100 µg/mL	ND
Cyclophosphamide	1000 µg/mL	ND
Doxorubicin	100 µg/mL	ND
5-Fluorouracil	1000 µg/mL	ND
Mitomycin C	100 µg/mL	ND
Vincristine	1000 ng/mL	ND

ND: not detectable<sup>4</sup>

### Bilirubin

	Bilirubin (unconjugated) <sup>1</sup>				
	100 mg/L		200 mg/L		
	Expected <sup>2</sup>	Observed <sup>3</sup>	%O/E <sup>4</sup>	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%

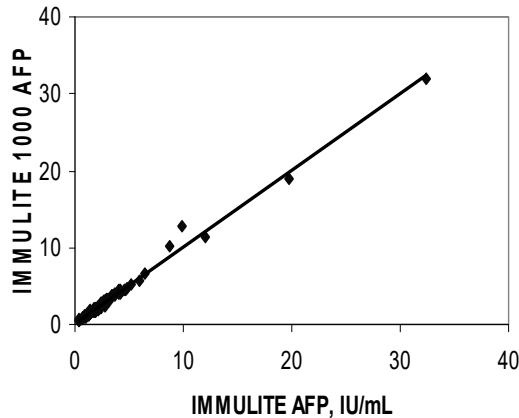
### Method Comparison 1 – Amniotic Fluid:



$$(IML\ 2000) = 1.03 (IML) + 0.52\ kIU/mL$$

$$r = 0.96$$

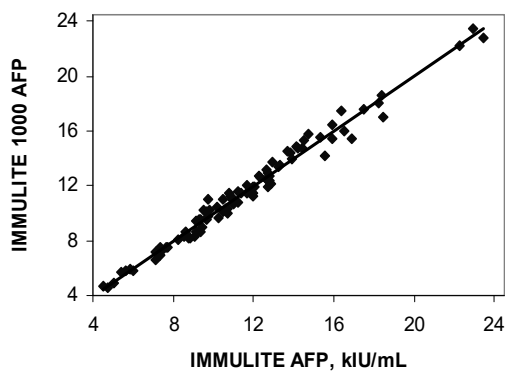
### Method Comparison 2 – Maternal Serum:



$$(IML\ 1000) = 0.99 (IML) + 0.13\ IU/mL$$

$$r = 0.996$$

### Method Comparison 3 – Amniotic Fluid:



$$(IML\ 1000) = 1.00 (IML) - 0.05\ kIU/mL$$

$$r = 0.991$$

**Deutsch. Precision:** <sup>1</sup>Intra-Assay, <sup>2</sup>Gesamt, <sup>3</sup>Mittelwert, <sup>4</sup>S (Standardbereich), <sup>5</sup>CV (Variationskoeffizient). **Linearity – Serum:** <sup>1</sup>Verdünnung, <sup>2</sup>Beobachten (B), <sup>3</sup>Erwarten (E), <sup>4</sup>% B/E, <sup>5</sup>32 in 32. **Linearity – Amniotic Fluid:** <sup>1</sup>Gesamten Verdünnung, <sup>2</sup>Beobachten (B),

<sup>3</sup>Erwarten (E), <sup>4</sup>% B/E, <sup>5</sup>1 in 100. **Recovery – Serum:** <sup>1</sup>Lösung, <sup>2</sup>Beobachten (B), <sup>3</sup>Erwarten (E), <sup>4</sup>% B/E. **Recovery – Amniotic Fluid:** <sup>1</sup>Niedrige Fruchtwasser-Proben, <sup>2</sup>Spiking hoch Fruchtwasser-Proben, <sup>3</sup>Beobachten (B), <sup>4</sup>Erwarten (E), <sup>4</sup>% B/E. **Specificity:** <sup>1</sup>Verbindung, <sup>2</sup>zugesezte Menge, <sup>3</sup>% Kreuzreaktivität, <sup>4</sup>NN: Nicht nachweisbar. **Bilirubin.** <sup>1</sup>Bilirubin (unconjugiert), <sup>2</sup>Erwarten (E), <sup>3</sup>Beobachten (B), <sup>4</sup>% B/E

**Español. Precision:** <sup>1</sup>Intraensayo, <sup>2</sup>Total, <sup>3</sup>Media, <sup>4</sup>DS, <sup>5</sup>CV. **Linearity – Serum:** <sup>1</sup>Dilución, <sup>2</sup>Observado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>%O/E, <sup>5</sup>32 en 32. **Linearity – Amniotic Fluid:** <sup>1</sup>Dilución total, <sup>2</sup>Observado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>%O/E, <sup>5</sup>1 en 100. **Recovery – Serum:** <sup>1</sup>Solución, <sup>2</sup>Observado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>%O/E. **Recovery – Amniotic Fluid:** <sup>1</sup>Muestra de bajo contenido de líquido amniótico, <sup>2</sup>Inoculación de muestra de alto contenido de líquido amniótico, <sup>3</sup>Observado (O), <sup>4</sup>Esperado (E), <sup>5</sup>%O/E. **Specificity:** <sup>1</sup>Compuesto, <sup>2</sup>Cantidad añadida, <sup>3</sup>% Reacción cruzada, <sup>4</sup>ND: no detectable. **Bilirubin.** <sup>1</sup>Bilirubina (no conjugado), <sup>2</sup>Esperado (E), <sup>3</sup>Observado (O), <sup>4</sup>%O/E.

**Français. Precision:** <sup>1</sup>Intraessai, <sup>2</sup>Total, <sup>3</sup>Moyenne, <sup>4</sup>SD, <sup>5</sup>CV. **Linearity – Serum:** <sup>1</sup>Dilution, <sup>2</sup>Observé (O), <sup>3</sup>Attendu (A), <sup>4</sup>%O/A, <sup>5</sup>32 dans 32. **Linearity – Amniotic Fluid:** <sup>1</sup>Dilution totale, <sup>2</sup>Observé (O), <sup>3</sup>Attendu (A), <sup>4</sup>%O/A, <sup>5</sup>1 dans 100. **Recovery – Serum:** <sup>1</sup>Solution, <sup>2</sup>Observé (O), <sup>3</sup>Attendu (A), <sup>4</sup>%O/A. **Recovery – Amniotic Fluid:** <sup>1</sup>Échantillon amniotique faible, <sup>2</sup>Échantillon amniotique élevé pour dilution, <sup>3</sup>Observé (O), <sup>4</sup>Attendu (A), <sup>5</sup>%O/A. **Specificity:** <sup>1</sup>Composé, <sup>2</sup>ajouté, <sup>3</sup>Réaction croisée%. <sup>4</sup>ND: non détectable. **Bilirubin.** <sup>1</sup>Bilirubine (non-conjugué), <sup>2</sup>Attendu (A), <sup>3</sup>Observé (O), <sup>4</sup>%O/A.

**Italiano. Precision:** <sup>1</sup>Intra-serie, <sup>2</sup>Totale, <sup>3</sup>Media, <sup>4</sup>SD (Deviazione Standard), <sup>5</sup>CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity – Serum:** <sup>1</sup>Diluizione, <sup>2</sup>Osservato (O), <sup>3</sup>Atteso (A), <sup>4</sup>%O/A, <sup>5</sup>32 in 32. **Linearity – Amniotic Fluid:** <sup>1</sup>Diluizione totale, <sup>2</sup>Osservato (O), <sup>3</sup>Atteso (A), <sup>4</sup>%O/A, <sup>5</sup>1 in 100. **Recovery – Serum:** <sup>1</sup>Soluzione, <sup>2</sup>Osservato (O), <sup>3</sup>Atteso (A), <sup>4</sup>%O/A. **Recovery – Amniotic Fluid:** <sup>1</sup>Liquido amniotico bassa, <sup>2</sup>Spiking liquido amniotico alta, <sup>3</sup>Osservato (O), <sup>4</sup>Atteso (A), <sup>5</sup>%O/A. **Specificity:** <sup>1</sup>Composto, <sup>2</sup>quantità aggiunta, <sup>3</sup>Percentuale di Crossreattività, <sup>4</sup>ND: non determinabile. **Bilirubin.** <sup>1</sup>bilirubina (non coniugato), <sup>2</sup>Atteso (A), <sup>3</sup>Osservato (O), <sup>4</sup>%O/A.

**Português. Precision:** <sup>1</sup>Entre-ensaios, <sup>2</sup>Total, <sup>3</sup>Média, <sup>4</sup>Desvio padrão, <sup>5</sup>Coefficiente de variação. **Linearity – Serum:** <sup>1</sup>Diluição, <sup>2</sup>Observado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>%O/E, <sup>5</sup>32 em 32. **Linearity – Amniotic Fluid:** <sup>1</sup>Diluição total, <sup>2</sup>Observado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>%O/E, <sup>5</sup>1 em 100. **Recovery – Serum:** <sup>1</sup>Solução, <sup>2</sup>Observado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>%O/E. **Recovery – Amniotic Fluid:** <sup>1</sup>Amostra amniótica baixa, <sup>2</sup>Divisão da Amostra amniótica elevada, <sup>3</sup>Observado (O), <sup>4</sup>Esperado (E), <sup>5</sup>%O/E.

**Specificity:** <sup>1</sup>Composto, <sup>2</sup>Quantidade adicionada, <sup>3</sup>Percentagem de reação cruzada, <sup>4</sup>ND: não detectável. **Bilirubin.** <sup>1</sup>bilirrubina (não-conjugado), <sup>2</sup>Esperado (E), <sup>3</sup>Observado (O), <sup>4</sup>%O/E.

---

## Deutsch

---

### IMMULITE AFP

**Anwendung:** Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE und IMMULITE 1000 Systeme für die quantitative Bestimmung 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.

Artikelnummer: **LKAP1** (100 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.<sup>1,2,3</sup> Das erneute Auftreten erhöhter AFP-Konzentrationen im adulten Serum wird nicht nur während der Schwangerschaft sondern auch bei verschiedenen benignen und malignen Erkrankungen beobachtet.

#### Hodenkrebs

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

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

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

Serielle Messungen des Serum-AFP spiegeln die therapeutische Effizienz bei Patienten mit nicht-seminomatösem Hodenkarzinom wider.<sup>9,15,17,26,27</sup> 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.<sup>9,15,28,29</sup> Die korrekte Interpretation postoperativer AFP-Konzentrationen muß unter Berücksichtigung der physiologischen Halbwertszeit des AFP erfolgen.<sup>21,22,24,25</sup> 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.<sup>17,21</sup> In diesen Fällen wird die Fortsetzung der geplanten Therapie empfohlen.<sup>21</sup>

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

#### **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.<sup>34</sup> Im Fruchtwasser sind in der 12. Gestationswoche und im mütterlichen Serum zwischen der 28. und 32. Gestationswoche die höchsten AFP-Konzentrationen zu finden.<sup>36</sup> Das Absinken der AFAFP-Konzentrationen spiegelt das Absinken des fötalen AFP wieder, was auf die Erhöhung des Fötusgröße und des Flüssigkeitsvolumens zurückzuführen ist.<sup>34</sup> 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.<sup>35</sup> 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.<sup>35,37</sup> Diese Bedingungen werden bei offenem Neuralrohrdefekt, offener Spina bifida, Anenzephalie, Omphalozele und kongenitaler Nephrose gefunden.<sup>32,38</sup> 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.<sup>35</sup>

Empfohlene Protokolle für das Screening des offenen Neuralrohrdefektes sind bereits publiziert worden.<sup>33,35</sup> 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 auszuschließen und um das Gestationsalter zu bestätigen. Mit Hilfe der Ultrasonographie können ebenfalls Zeichen für ein offenes Neuralrohrdefekt gefunden werden, v.a. die Anenzephalie, da es sich um eine große leicht zu erkennende Läsion handelt. Wenn die Korrektur des Gestationsalters oder die Berücksichtigung von Mehrlingsschwangerschaften nicht zu AFP-Konzentrationen innerhalb des Referenzbereiches führen, ist eine diagnostische Ultrasonographie und/oder eine Amniozentese indiziert. Im Falle

eines positiven MSAFP-Befundes kann die höchste diagnostische Wertigkeit durch Kombination der biochemischen Analysen und der diagnostischen Ultrasonographie erzielt werden.<sup>35</sup>

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

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

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

## Methodik

Der IMMULITE/IMMULITE 1000 AFP ist ein Festphasen-, sequenzieller Zweischnitt-Chemilumineszenz-, Immunometrischer Assay.

**Inkubationszyklen:** 2 × 30 Minuten

## Probengewinnung

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

Lipämische Proben sollten durch Ultrazentrifugation vor Einsatz im Assay geklärt werden.

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

Ikterische oder stark 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/ IMMULITE 1000 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 beständigem Gestationsalters gewonnen werden. Die Probe sollte zentrifugiert werden, wo-bei der klare Überstand bewahrt wird. Sowohl der Überstand als auch das Sediment sollte auf Blutzellen oder Hämoglobin untersucht werden, da bereits Spuren von fötalem Material die AFP-Konzentration der Probe erhöhen, womit



die Probe für eine Analyse ungeeignet wird. Der Ursprung des fötalen Materials sollte mit Hilfe eines fötalen Hämoglobin-Tests bestimmt werden. Falls eine fötale Kontamination stattgefunden hat und der AFP-Wert erhöht ist, sollte eine neue Probe nach 7 bis 10 Tagen zur Evaluation entnommen werden. Eine Kontamination des Fruchtwassers mit mütterlichem Serum kann zu richtigen AFP-Werten führen, wenn das Ausmaß der Kontamination nicht so groß ist, dass es zur Verdünnung der Probe führt. In dieser Packungsbeilage bezieht sich *Fruchtwasser* auf den klaren Überstand des Fruchtwassers nach Zentrifugation.

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

#### Erforderliche Menge

**Serum:** 10 µl (Inhalt der Probenträger muss mindestens 100 µl über der erforderlichen Gesamtmenge liegen).

**Fruchtwasser:** 10 µl von vorverdünnten Fruchtwasser-Proben (Inhalt der Probenträger muss mindestens 100 µl über der erforderlichen Gesamtmenge liegen).

Die Fruchtwasserproben müssen zunächst mit dem Diluenten 1:100 mit Hilfe des AFP-Verdünnungspuffers verdünnt werden, z.B. durch Hinzufügen von 10 µl Fruchtwasser zu 1 ml AFP-Verdünnungspuffer. Die Ergebnisse der verdünnten Probe müssen mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert werden, um die AFP-Konzentration zu erhalten.

#### Lagerung

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

**Fruchtwasser:** Fruchtwasser-Proben sollten bei –20°C aufbewahrt werden. Zur Vermeidung wiederholten Auftauens und Einfrierens empfiehlt es sich, Aliquots

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

#### 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 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 Komponenten sind aufeinander abgestimmt. Die Barcode-Etiketten werden für den Assay benötigt.

### **AFP-Testeinheiten (LAP1)**

Jede mit Barcode-Etikette versehene Einheit enthält eine mit monoklonalem Anti-AFP-Mausantikörper beschichtete

Kugel. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

**LKAP1:** 100 Testeinheiten

Verpackte Testeinheiten vor dem Öffnen stehen lassen, bis sie Zimmertemperatur erreicht haben. Oben entlang der Kante aufschneiden, ohne den Plastikverschluss zu beschädigen. Verpackungen wieder dicht verschließen, damit der Inhalt trocken bleibt.

### **AFP-Reagenzbehälter (LAPA, LAPB)**

Mit Barcode. **LAPA:** ein Behälter (7,5 ml) mit Proteinpuffer/nichthumaner Serummatrix. **LAPB:** ein Behälter (7,5 ml) mit alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugiertes polyklonales anti-AFP (Kaninchen) in Pufferlösung. Verschlossen und gekühlt aufbewahren: Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar. Bei entsprechender Lagerung beträgt die empfohlene Aufbrauchsfrist nach dem Öffnen 30 Tage.

**LKAP1:** 1 Set

### **AFP-Kalibratoren (LAPL, LAPH)**

Zwei Fläschchen (Low und High) mit jeweils 2 ml AFP in einer Serum-Matrix (Rind). Bis 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder bis 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).

**LKAP1:** 1 Set

## **Separat erhältliche Testsystem-Komponenten**

### **IMMULITE--Probenverdünner für den AFP-Test (LAPZ)**

Für manuelle Verdünnungen von hochkonzentrierten Serum- und Fruchtwasser-Proben. Enthält 25 ml einer AFP freien Serummatrix (Rind) mit Konservierungsmittel. Bis 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder bis 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).

**Die Analyse von Fruchtwasser erfordert eine 1:100 Verdünnung der Probe (manuelle Verdünnung mit dem AFP Sample Diluent). Die Ergebnisse mit den verdünnten Proben müssen zur Bestimmung der tatsächlichen AFP-**

### **Konzentration mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert werden.**

**LSUBX:** Chemilumineszenz-Substrat

**LPWS2:** Pipettenwaschlösung

**LKPM:** Pipettenreinigungsset

**LCHx-y:** Halterungen für die Probenträger (mit Barcodierung)

**LSCP:** Probenträger (Einwegartikel)

**LSCC:** Verschlüsse für die Probenschalen (optional)

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 IMMULITE oder IMMULITE 1000-Handbuch beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Das Handbuch für das IMMULITE bzw. IMMULITE 1000 enthält die Anweisungen für Vorbereitung, Geräteeinstellungen, Verdünnungen, Kalibrierung, Testdurchführung und Qualitätskontrollen.

Überprüfen Sie jedes Testeinheit auf das Vorhandensein der Polystyrol-Kugel vor dem Einsetzen in das Gerät.

### **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 AFP in mindestens zwei verschiedenen 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

### AFP Werte bei Patienten mit Hodenkrebs

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 Erkrankungen (Leberzirrhose, Hepatitis B und C, Colitis ulcerosa, Emphysem, Darm und Analpolypen), sowie einiger gesunder weiblicher Probanden eingesetzt.

Die Verteilung der Werte der verschiedenen Patientenkollektive ist der Tabelle zu entnehmen. Die Gesamtzahl der Probanden jedes Kollektives ist in Klammern angegeben.

IU/ml:	< 5	5–15	15–100	> 100
<b>Männer</b>				
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 Nichtmaligne Erkrankungen (6)	5	—	—	1

IU/ml: < 5 5–15 15–100 > 100

### Frauen

Gesunde Frauen (29)	29	—	—	—
Maligne Erkrankungen (20)	18	—	1	1
Nichtmaligne Erkrankungen (16)	15	—	1	—

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

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.<sup>8</sup>

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.<sup>8-15</sup>

### AFP Werte für mütterliche Seren und Fruchtwasser

Bedingt durch mögliche Variationen bei der Durchführung in verschiedenen Labors ist es empfehlenswert, dass jedes Labor seine eigenen AFP Medianwerte für die 15. bis 20. Schwangerschaftswoche auf Basis der zu testenden Population ermittelt. Zur Berechnung der cut-off Werte für Tests mit mütterlichen Seren und Fruchtwasser werden üblicherweise Vielfache des Medians (MoM) von 2 oder

2,5 verwendet. Jedes AFP Ergebnis kann daher auch als ein Vielfaches des Medianwertes der nicht betroffenen Bevölkerung dargestellt werden. Dies erhält man, wenn der AFP-Wert durch den Medianwert der korrespondierende Gestationswoche dividiert wird. Die Angabe Schwangerschaftswoche definiert sich als die abgeschlossene Schwangerschaftswoche; z.B. werden die 16. Woche und 6 Tage noch als die 16. Woche angesehen. Es empfiehlt sich Median- und MoM-Werte für jede Schwangerschaftswoche auf der Basis von mindestens 100 mütterlichen Seren und 50 Fruchtwasser-Proben von einzelnen, nicht betroffenen Schwangeren mit nachgewiesenem Gestationsalter zu bestimmen.

Nachfolgende Medianwerte wurden mit den IMMULITE und IMMULITE 2000 AFP Assays im Serum von schwangeren Frauen bestimmt. Die Berechnung erfolgt mit einer gewichteten Log-lin-Regression. Die Daten beziehen sich auf unauffällige Einlingsschwangerschaften aus drei klinischen Zentren in den Vereinigten Staaten.

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.

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

\* Log-Linearregression

## Grenzen der Methode

**Diagnose:** Da erhöhte AFP-Serumspiegel auch bei anderen Erkrankungen als den nicht-seminomatösen Hodentumoren auftreten, kann die Diagnose eines nicht-seminomatösen Hodentumors nicht alleine durch die Bestimmung des AFP gestellt werden.

**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, wohingegen ein zu hoch eingeschätztes Gestationsalter zu einer falsch negativen Interpretation führen kann. Wenn das genaue Gestationsalter nicht sicher ist, empfiehlt sich zur Bestätigung eine Ultrasonographie durchzuführen.

Heterophile Antikörper in Humansenen können mit Immunglobulinen aus den Assaykomponenten reagieren und Interferenzerscheinungen innerhalb des *in vitro* Immunoassays verursachen. (*Clin Chem* 1988;34:27-33) Proben von Patienten, die häufig mit Tier- bzw. Tiereserumprodukten 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. Alle Daten, mit Ausnahme der Methodenvergleiche zwischen dem IMMULITE und IMMULITE 1000 System, wurden mit dem IMMULITE System ermittelt. 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 1st IS 72/225)

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

### High-Dose-Hook-Effect:

Bis 400 000 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 „Präzision“.)

**Linearität:** Serum- und Fruchtwasser-Proben wurden in verschiedenen Verdünnungsreihen getestet. (Siehe Tabelle „Linearity“.)

**Wiederfindung:** Serumproben wurden mit drei AFP Lösungen (9,8, 31 und 67 IU/ml)

und Fruchtwasser-Proben mit drei hochkonzentrierten Fruchtwasser Lösungen (10 000, 20 000 und 36 000 IU/ml) im Verhältnis von 1:19 versetzt. (Siehe Tabelle „Recovery“.)

**Spezifität:** Der Assay ist hochspezifisch für AFP. (Siehe Tabelle „Specificity“.)

**Bilirubin (unkonjugiert):** Geringer, im t-Test jedoch statistisch signifikanter 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 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.

**Methodenvergleich: – Studien mit Hodenkarzinomen:** Der Assay wurde an zwei klinischen Stellen mit einem auf dem Markt zugelassenen Assay (Kit C) verglichen. Im Rahmen der ersten Studie (durchgeführt im Nordwesten der USA) wurden insgesamt 264 Proben untersucht. Das Kollektiv beinhaltete auch Proben männlicher Patienten mit seminomatösen und nicht-seminomatösen Hodentumoren sowie auch einige Seren weiblicher Patienten. Auf der Grundlage der methodenabhängigen Cut-Off Konzentrationen beider Methoden (basierend auf der 99 %-Perzentile für gesunde Männer — also 5 IU/ml für IMMULITE und 8,9 ng/ml (7,36 IU/ml) für Kit C. Wurden die Ergebnisse qualitativ verglichen.

Kit C	IMMULITE AFP		Relative Sensitivität (95% CI)	Relative Spezifität (95% CI)
	Pos	Neg		
Positiv	74	4	94,9%	97,3%
Negativ	5	181	(87,4– 98,6%)	(93,8– 99,1%)

Übereinstimmung: 96,6%

In der zweiten Studie (im Süden der Vereinigten Staaten) wurden insgesamt 213 Probanden, einschließlich Proben von Männern mit seminomatösen und nicht-

seminomatösen **Hodentumoren** und anderen malignen Erkrankungen, sowie einige Frauenserum getestet.

Kit C	IMMULITE AFP		Relative Sensitivität (95% CI)	Relative Spezifität (95% CI)
	Pos	Neg		
Positiv	62	3	95,4%	97,3%
Negativ	4	144	(87,1–99,0%)	(93,2–99,3%)

Übereinstimmung: 96,7 %

Zusätzlich wurden für 424 Proben, die in beiden Methoden jeweils innerhalb der etablierten Bereiche bestimmt wurden, eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt:

(IML) = 0,83 (Kit C) – 0,17 IU/ml  
r = 0,99  
n = 424

95%		
Vertrauensbereich	Slope	Intercept
niedrigster Wert	0,81	–0,65
höchster Wert	0,84	0,31

**Methodenvergleich – Studie mit Neuralrohrdefekten:** In zwei separaten Studien in den USA wurden die Ergebnisse des IMMULITE 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) = 0,83 (Kit B) + 6,51 IU/ml  
r = 0,97  
n = 1,006

95%		
Vertrauensbereich (CI)	Slope	Intercept
niedrigster Wert	0,82	5,93
höchster Wert	0,85	7,09

(IML) = 0,87 (Kit A) + 2,72 IU/ml  
r = 0,96  
n = 346

95%		
Vertrauensbereich (CI)	Slope	Intercept
niedrigster Wert	0,84	1,64
höchster Wert	0,89	3,79

In einer der oben aufgeführten Studien wurden die IMMULITE AFP Ergebnisse **für Fruchtwasser-Proben** in einer linearen Regression mit dem Kit B verglichen (Konzentrationsbereich: nicht nachweisbar bis 173 kIU/ml).\*

(IML) = 0,78 (Kit B) + 0,17 kIU/ml  
r = 0,99  
n = 185

95%		
Vertrauensbereich	Slope	Intercept
niedrigster Wert	0,76	–0,19
höchster Wert	0,79	0,53

\* Die Fruchtwasser-Proben wurden 1:100 manuell verdünnt bevor sie mit dem IMMULITE Instrument untersucht wurden.

Der Assay wurde auch für Fruchtwasser-Proben im Konzentrationsbereich von etwa 3 bis 20 kIU/ml\* mit dem IMMULITE 2000 AFP Assay verglichen. (Siehe die graphische Darstellung „Method Comparison 1“.) 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 (CI)	Slope	Intercept
Niedrigster Wert	0,93	–0,50
höchster Wert	1,12	1,54

\* Die Fruchtwasser-Proben wurden 1:100 manuell verdünnt bevor sie mit dem IMMULITE Instrument untersucht wurden.

Der Assay wurde auch für mütterliche Seren im Konzentrationsbereich von etwa 10 bis 120 IU/ml mit dem IMMULITE 2000 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 (CI)	Slope	Intercept
Niedrigster Wert	0,99	–0,60
Höchster Wert	1,03	0,91

**Klinische Sensitivität für mütterliche Seren,  
n = 13:**

Gestations- woche	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15–20	92,3%	69,2%	69,2%
95% CI* für alle Proben	64,0%– 99,8%	38,6%– 90,9%	38,6%– 90,9%

\* Vertrauensbereich

**Klinische Spezifität für mütterliche Seren**

Gesta- tions- woche	n	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	173	96,0%	98,8%	98,8%
16	411	98,1%	99,3%	99,5%
17	372	96,5%	99,7%	100%
18	204	95,1%	99,0%	100%
19	108	94,4%	99,1%	100%
20	50	100%	100%	100%
15–20	1318	96,7%	99,3%	99,7%
95% CI* für alle Proben		95,5%– 97,6%	98,7%– 99,7%	99,2%– 99,9%

\* Vertrauensbereich

**Klinische Sensitivität für Fruchtwasser,  
n = 10:**

Gestations- woche	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15–20	90,0%	90,0%	90,0%
95% CI* für alle Proben	55,5%– 99,8%	55,5%– 99,8%	55,5%– 99,8%

\* Vertrauensbereich

**Klinische Spezifität für Fruchtwasser:**

Gesta- tions- woche	n	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	23	100%	100%	100%
16	39	97,4%	100%	100%
17	25	100%	100%	100%
18	34	94,1%	97,1%	100%
19	33	100%	100%	100%
20	13	100%	100%	100%
15–20	167	98,2%	99,4%	100%
95% CI* für alle Proben		94,8%– 99,6%	96,7%– 100%	97,8%– 100%

95% CI\* für alle Proben

**Methodenvergleich mit mütterlichem Serum – IMMULITE 1000 vs. IMMULITE:**

Insgesamt wurden 110 Proben mit dem IMMULITE und dem IMMULITE 1000 AFP Assay von getestet. (Siehe die graphische Darstellung "Method Comparison 2".)

Durch lineare Regression:

$$(IML\ 1000) = 0,99 (IML) + 0,13\ IU/ml$$

$$r = 0,996$$

Mittelwerte:  
2,88 IU/ml (IML 1000)  
2,77 IU/ml (IML)

**Methodenvergleich mit Fruchtwasser – IMMULITE 1000 vs. IMMULITE:**

Insgesamt wurden 91 Proben mit dem IMMULITE und dem IMMULITE 1000 AFP Assay von getestet. (Siehe die graphische Darstellung "Method Comparison 3".)

Durch lineare Regression:

$$(IML\ 1000) = 1,00 (IML) - 0,05\ kIU/ml^*$$

$$r = 0,991$$

Mittelwerte:  
11,5 kIU/ml (IML 1000)  
11,5 kIU/ml (IML)

\*Die Fruchtwasser-Proben wurden 1:100 manuell verdünnt bevor sie mit den IMMULITE und IMMULITE 1000 Instrumenten untersucht wurden.

**Technische Unterstützung**

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Siemens Niederlassung.

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

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

---

## Español

---

### IMMULITE AFP

**Utilidad del análisis:** Para su uso en el diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE e IMMULITE 1000 — 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.

Referencia: **LKAP1** (100 tests)

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

Pueden encontrarse variaciones en las concentraciones de AFP en una muestra determinada realizadas con ensayos de diferentes distribuidores dependiendo de la metodología del ensayo y especificidad del reactivo.

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

### Resumen y Explicación del Test

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

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

#### Cáncer testicular

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

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

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

La valoración a lo largo del tiempo de AFP en suero ha demostrado su gran eficacia,



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

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

### **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<sup>34</sup>. La concentración de AFAFP es máxima aproximadamente a las 12 semanas de gestación, mientras que la concentración de MSAFP es máxima aproximadamente a las 28–32 semanas de gestación<sup>36</sup>. 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<sup>34</sup>. 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<sup>35</sup>; embarazos asociados con defectos del tubo neural fetal abierto con niveles elevados de AFP. El exceso de AFP entra al líquido amniótico y, en menor grado, al suero materno, por trasudación a través de la superficie expuesta del feto o de los glomérulos dañados<sup>35,37</sup>. Estas condiciones se encuentran en los defectos del tubo neural abierto, incluyendo espina bífida abierta y anencefalía, onfalocelo y nefrosis congénita<sup>32,38</sup>. 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<sup>35</sup>.

Se han publicado protocolos recomendados para detectar la presencia de defectos del tubo neural abierto<sup>33,35</sup>. 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<sup>35</sup>.

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 AFAP. 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 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 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/IMMULITE 1000 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<sup>31</sup> 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.

Las muestras lipémicas deberán clarificarse con la ayuda de una ultracentrífuga antes de analizar el suero.

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

Las muestras ictericas o ampliamente contaminadas pueden dar resultados erróneos.

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

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El AFP IMMULITE/IMMULITE 1000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos.

**Líquido amniótico:** El líquido amniótico deberá obtenerse por amniocentesis en tubos simples. Las muestras deberán obtenerse por una amniocentesis transabdominal aséptica, realizada por un obstetra con experiencia en esta técnica, durante el segundo trimestre del embarazo en las mujeres cuya edad gestacional está confirmada. Centrifugar las muestras, reteniendo una parte del sobrenadante transparente. Buscar signos

de sangre o hemoglobina tanto en el sobrenadante como en el sedimento, ya que la contaminación con incluso cantidades infinitesimales de material fetal elevará la concentración aparente de AFP de la muestra, haciéndola inadecuada para su análisis. El origen del material fetal deberá determinarse mediante un análisis para hemoglobina fetal. Si ha habido contaminación fetal y la concentración de AFP es elevada, deberá obtenerse una muestra adicional para su evaluación 7 a 10 días después. La contaminación del líquido amniótico con el suero materno puede reflejar niveles de AFP precisos siempre que el grado de contaminación no sea suficiente para diluir la muestra. De aquí en adelante, en las indicaciones incluidas en este paquete, *líquido amniótico* se refiere al sobrenadante transparente obtenido de la centrifugación del líquido amniótico.

**Determinación cronológica: Para evaluar los resultados AFP, es esencial conocer la edad gestacional. El momento recomendado para la toma de las muestras es entre la 16<sup>o</sup> y la 18<sup>o</sup> semana gestacional para el suero y entre la 16<sup>o</sup> y la 20<sup>o</sup> 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 (el recipiente de la muestra debe contener, como mínimo, 100 µl más que el volumen total requerido).

**Líquido amniótico:** 10 µl de muestra de líquido amniótico prediluido (el recipiente de la muestra debe contener, como mínimo, 100 µl más que el volumen total requerido).

Todas las muestras de líquido amniótico deben primero diluirse 1 en 101 usando el Diluyente de Muestra AFP, por ejemplo, añadiendo 10 µl de líquido amniótico a 1,0 ml de Diluyente de Muestra AFP. Los resultados de la muestra diluida deben multiplicarse por el factor de dilución para obtener la concentración final de AFP.

#### **Conservación**

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

**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 embalsarse 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 eliminación, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitución de residuos de azidas metálicas, potencialmente explosivas, en las canerías 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 de código de barras son necesarias para el ensayo.

### Unidades de análisis de AFP (LAP1)

Cada unidad etiquetada con código de barras contiene una bola recubierta de anticuerpos monoclonales murinos anti-AFP. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

**LKAP1:** 100 unidades

Espere a que las bolsas de las unidades de análisis alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlas. Ábralas cortando por el extremo superior, dejando el borde del cierre de cremallera intacto. Vuelva a cerrar las bolsas herméticamente para protegerlas de la humedad.

### Viales de reactivos de AFP

#### (LAPA, LAPB)

Con códigos de barras. **LAPA:** un vial (7,5 ml) que contiene una matriz de suero con proteína no humana en solución tampón. **LAPB:** un vial (7,5 ml) que contiene fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con anticuerpos policlonales de conejo anti-AFP en solución tampón. Guardar tapado y refrigerado: estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad. Se recomienda utilizarlo antes de que pasen 30 días después de abrirlo cuando se guarda según lo indicado.

**LKAP1:** 1 juego

### Ajustadores de AFP (LAPL, LAPH)

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

**LKAP1:** 1 juego

## Componentes del kit que se suministran por separado

### Diluyente para muestras de AFP (LAPZ)

Para la dilución manual de muestras con alto contenido de suero y muestras de líquido amniótico. 25 ml de AFP libre en una matriz de suero bovino, con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrirse, o hasta 6 meses (alícuotados) a –20°C.

**El análisis del líquido amniótico requiere una dilución 1 en 101 de la muestra (dilución manual con el Diluyente de Muestra AFP). Los resultados de la muestra diluida deben multiplicarse por el factor de dilución para obtener la concentración final de AFP.**

**LSUBX:** Sustrato quimioluminiscente

**LPWS2:** Lavado de sonda

**LKPM:** Kit de limpieza de sonda

**LCHx-y:** Soportes de recipientes de muestras (con códigos de barras)

**LSCP:** Recipientes de muestras (desechables)

**LSCC:** Tapas para los recipientes de muestras (opcionales)

También necesarios

Pipetas de transferencia de muestras; agua destilada o desionizada

## Ensayo

Aviso: para obtener el funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el manual del operador de IMMULITE o IMMULITE 1000.

Ver el Manual del Operador del IMMULITE o IMMULITE 1000 para preparación, procesamiento, diluciones, ajuste, procedimientos de ensayo y control de calidad.

Inspeccionar visulamente cada unidad de reacción para asegurarse de que hay una bola antes de introducirla en el Sistema.

### 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 suero con dos niveles diferentes, como mínimo, 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

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
<b>Hombres</b>				
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
<b>Mujeres</b>				
Mujeres sanas (29)	29	—	—	—
Enfermedades malignas (20)	18	—	1	1
Enfermedades no malignas (16)	15	—	1	—

### Mujeres

Mujeres sanas (29)

29 — — —

Enfermedades malignas (20)

18 — 1 1

Enfermedades no malignas (16)

15 — 1 —

Estos límites han de considerarse sólo como una *guía*. Cada laboratorio deberá establecer sus propios intervalos 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<sup>8</sup>.

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)<sup>8–15</sup>.

### 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 recogen las medianas de muestras de suero materno, generadas con los ensayos de AFP IMMULITE e IMMULITE 2000, calculadas mediante una regresión no lineal ponderada a partir de los datos obtenidos en tres ensayos clínicos en los Estados Unidos de Norteamérica con embarazos normales no gemelares:

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

\*Por regresión

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

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

\* Por regresión

## Limitaciones

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

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

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

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del

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

### Características analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo ver las tablas y los gráficos. Todos los datos, excepto las comparaciones entre los analizadores IMMULITE e IMMULITE 1000, fueron generados en el analizador IMMULITE. 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 1st IS 72/225)

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

**Efecto de gancho a altas dosis:** Ninguno hasta 450 000 IU/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 de suero y líquido amniótico fueron analizadas empleando varias diluciones. (Véase la tabla "Linealidad" para resultados representativos.)

**Recuperación:** Se analizaron muestras de suero inoculadas 1 en 20 con tres soluciones de AFP (9,8, 31 y 67 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 "Recuperación" para resultados representativos.)

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

**Bilirrubina (no conjugado):** Presenta un pequeño efecto pero no es significativo estadísticamente (t-test). (Véase la tabla "Bilirrubina".)

**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 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.

**Comparación del método – Estudios de cáncer testicular:** Se comparó el ensayo con un ensayo legalmente comercializado (Kit C) en dos clínicas. En la primera clínica (situada en el noroeste de Estados Unidos), se evaluaron un total de 264 muestras, incluyendo muestras procedentes de pacientes varones con **cáncer testicular no seminomatoso** y otros tipos de tumores malignos y benignos, así como muestras de unas cuantas mujeres. Los resultados se compararon de forma cualitativa, en relación a los cortes basados en los percentiles 99º establecidos para varones sanos 5 IU/ml para IMMULITE, y 8,9 ng/ml (7,36 IU/ml) para Kit C.

Kit C	AFP de IMMULITE		Sensibilidad relativa (95% CI)	Especificidad relativa (95% CI)
	Pos	Neg		
Positivo	74	4	94,9%	97,3%
Negativo	5	181	(87,4–98,6%)	(93,8–99,1%)

Concordancia: 96,6%

En la segunda clínica (situada en el sur de Estados Unidos), se evaluaron un total de 213 muestras, incluyendo muestras de pacientes varones con **cáncer testicular**

seminomatoso y no seminomatoso, y otros tipos de tumores, así como muestras de unas cuantas pacientes mujeres.

Kit C	IMMULITE AFP		Sensibilidad relativa (95% CI)	Especificidad relativa (95%CI)
	Pos	Neg		
Positivo	62	3	95,4%	97,3%
Negativo	4	144	(87,1–99,0%)	(93,2–99,3%)

Concordancia: 96,7%

Los 424 resultados de ambas clínicas, los cuales estaban dentro del intervalo para ambos ensayos, también se compararon mediante un análisis de regresión lineal:

$$(IML) = 0,83 (\text{Kit C}) - 0,17 \text{ IU/ml}$$

$$r = 0,99$$

$$n = 424$$

Intervalo de certeza del 95% (IC)	Pendiente	Intersección
Más bajo	0,81	-0,65
Alto	0,84	0,31

**Comparación del método – 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 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.

$$(IML) = 0,83 (\text{Kit B}) + 6,51 \text{ IU/ml}$$

$$r = 0,97$$

$$n = 1,006$$

Intervalo de certeza del 95% (IC)	Pendiente	Intersección
Más bajo	0,82	5,93
Alto	0,85	7,09

$$(IML) = 0,87 (\text{Kit A}) + 2,72 \text{ IU/ml}$$

$$r = 0,96$$

$$n = 346$$

Intervalo de certeza del 95% (IC)	Pendiente	Intersección
Más bajo	0,84	1,64
Alto	0,89	3,79

En uno de los estudios anteriormente mencionados, los resultados del IMMULITE AFP también se compararon con el Kit B en una regresión lineal para muestras de **líquido amniótico**, en un rango de no detectable a 173 kIU/ml\*.

$$(IML) = 0,78 (\text{Kit B}) + 0,17 \text{ kIU/ml}$$

$$r = 0,99$$

$$n = 185$$

Intervalo de certeza del 95% (IC)	Pendiente	Intersección
Más bajo	0,76	-0,19
Alto	0,79	0,53

\* Las muestras de líquido amniótico fueron diluidas 1 en 101 fuera del equipo antes de ser analizadas por el equipo IMMULITE.

También se comparó el ensayo con el IMMULITE 2000 AFP en muestras de líquido amniótico, en un rango de aproximadamente 3 a 20 kIU/ml\*. (Ver la comparación de métodos 1 en la gráfica.) Por regresión lineal:

$$(IML\ 2000) = 1,03 (IML) + 0,52 \text{ kIU/ml}$$

$$r = 0,96$$

$$n = 46$$

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

\* Las muestras de líquido amniótico fueron diluidas 1 en 101 fuera del equipo antes de ser analizadas por el equipo IMMULITE.

También se comparó el ensayo con el IMMULITE 2000 AFP en muestras de suero materno, en un rango de aproximadamente 10 a 120 IU/ml. Por regresión lineal:

$$(IML\ 2000) = 1,01 (IML) + 0,154 \text{ IU/ml}$$

$$r = 0,982$$

$$n = 346$$

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 = 13:**

Semana De Gestacional	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15–20	92,3%	69,2%	69,2%
IC del 95% para todas las muestras	64,0%–99,8%	38,6%–90,9%	38,6%–90,9%

**Especificidad clínica para el suero materno:**

Semana De Gestacional	n	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	173	96,0%	98,8%	98,8%
16	411	98,1%	99,3%	99,5%
17	372	96,5%	99,7%	100%
18	204	95,1%	99,0%	100%
19	108	94,4%	99,1%	100%
20	50	100%	100%	100%
15–20	1318	96,7%	99,3%	99,7%
IC del 95% para todas las muestras		95,5%–97,6%	98,7%–99,7%	99,2%–99,9%

**Sensibilidad clínica para el líquido amniótico, n = 10:**

Semana De Gestacional	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15–20	90,0%	90,0%	90,0%
IC del 95% para todas las muestras	55,5%–99,8%	55,5%–99,8%	55,5%–99,8%

**Especificidad clínica para el líquido amniótico:**

Semana De Gestacional	n	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	23	100%	100%	100%
16	39	97,4%	100%	100%
17	25	100%	100%	100%
18	34	94,1%	97,1%	100%
19	33	100%	100%	100%
20	13	100%	100%	100%
15–20	167	98,2%	99,4%	100%
IC del 95% para todas las muestras		94,8%–99,6%	96,7%–100%	97,8%–100%

**Comparación de métodos con suero materno – IMMULITE 1000 vs.**

**IMMULITE:** Se analizaron un total de 110 muestras de suero materno con en el ensayo IMMULITE/IMMULITE 1000 AFP en los dos sistemas. (Ver la comparación de métodos 2 en la gráfica Suero Materno.) Por regresión lineal:

$$(IML\ 1000) = 0,99 (IML) + 0,13\ IU/ml$$

$$r = 0,996$$

Medias:

2,88 IU/ml (IML 1000)

2,77 IU/ml (IML)

**Comparación de métodos con Fluido Amniótico – IMMULITE 1000 vs.**

**IMMULITE:** Se analizaron un total de 91 de muestras de líquido amniótico con en el ensayo IMMULITE/IMMULITE 1000 AFP en los dos sistemas. (Ver la comparación de métodos 3 en la gráfica Líquido Amniótico.) Por regresión lineal:

$$(IML\ 1000) = 1,00 (IML) - 0,05\ kIU/ml^*$$

$$r = 0,991$$

Medias:

11,5 kIU/ml (IML 1000)

11,5 kIU/ml (IML)

\*Las muestras de líquido amniótico fueron diluidas 1 en 101 fuera del equipo antes de ser analizadas por el equipo IMMULITE e IMMULITE 1000.

**Asistencia técnica**

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

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

## Français

### IMMULITE AFP

**Domaine d'utilisation :** Réservé à un usage diagnostique *in vitro* avec les analyseurs IMMULITE et IMMULITE 1000 — pour la mesure quantitative d'alpha-fœtoprotéine dans un des deux contextes suivants : (a) les mesures en série du sérum humain pour contribuer à la prise en charge des patients atteints d'un cancer testiculaire de stade 1 ou (b) les mesures du sérum maternel et du liquide amniotique entre la 15<sup>ème</sup> et la 20<sup>ème</sup> semaine de gestation (utilisé conjointement avec une échographie ou une amniographie) pour contribuer au dépistage d'anomalies du tube neural chez le fœtus.

Référence catalogue : **LKAP1** (100 tests)

Code produit : **AF**

Code couleur : **Gris clair**

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

### Introduction

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

Certaines séquences de l'AFP sont homologues à celles de l'albumine. L'AFP est produite par le fœtus principalement dans les cellules du sac vitellin, du tractus gastro-intestinal et du foie. L'AFP est la protéine sérique majeure chez le fœtus, sa concentration diminuant rapidement vers la naissance.<sup>1,2,3</sup> 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.<sup>8-15</sup> 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.<sup>8-15</sup>

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.<sup>9,16,18,19</sup> 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.<sup>20</sup> 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.<sup>8,15,21</sup>

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.<sup>9,16,17,18,22</sup> La mesure de l'AFP constitue une aide au suivi de l'évolution de la maladie.<sup>18,22-26</sup>

Des dosages en série d'AFP sérique permettent d'évaluer l'efficacité des traitements chez des patients atteints de tumeurs testiculaires non séminomateuses.<sup>9,15,17,26,27</sup> 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.<sup>9,15,28,29</sup> L'interprétation précise des variations postopératoires d'AFP doit tenir compte de son taux de catabolisme.<sup>21,22,24,25</sup> 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.<sup>17,21</sup> Dans ce contexte, un arrêt de la thérapie planifiée a été fortement recommandée.<sup>21</sup>

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.<sup>9,17,18</sup> Des concentrations élevées d'AFP sont fréquemment obtenues lors de la réapparition d'une tumeur avant que celle-ci puisse être cliniquement observée.<sup>9,18</sup>

### **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 14<sup>ème</sup> semaine de gestation.<sup>34</sup> La concentration dans le liquide amniotique atteint son niveau maximal aux alentours de la 12<sup>ème</sup> semaine et la concentration dans le sérum maternel entre la 28<sup>ème</sup> et la 32<sup>ème</sup>

semaine de gestation.<sup>36</sup> 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.<sup>34</sup> 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.<sup>35</sup> 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.<sup>35,37</sup> 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.<sup>32,38</sup> 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.<sup>35</sup>

Les protocoles recommandés pour le dépistage de non-fermeture du tube neural ont été publiés.<sup>33,35</sup> Les taux d'inclusion pour le sérum maternel et le liquide amniotique peuvent être choisis en vue d'optimiser les besoins des populations testées en fonction de la prévalence des défauts de fermeture du tube neural. Pour les diagnostics du sérum maternel et du liquide amniotique, les limites utilisent habituellement des multiples de la médiane de 2,0 ou 2,5. La période comprise entre la 16<sup>ème</sup> et la 18<sup>ème</sup> 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-

foetoprotéine 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-foetoprotéine 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.<sup>35</sup>

Des taux élevés d'alpha-foetoprotéine 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-foetoprotéine 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-foetoprotéine 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-foetoprotéine, 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-foetoprotéine 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 AFP destinée aux médecins (Cat. #ZS1105) et celle destinée aux patients (Cat. #ZS1106), qui décrivent les tests prénataux d'alpha-foetoprotéine pour le dépistage de défauts de fermeture du tube neural, contacter votre distributeur national.

## Principe du test

Le test IMMULITE/IMMULITE 1000 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<sup>31</sup> 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.

Les échantillons lipémiques doivent être clarifiés à l'aide d'une ultracentrifugeuse avant le dosage du sérum.

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

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

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

Des tubes pour prélèvements sanguins provenant de fabricants différents peuvent donner des résultats différents, selon les matériaux et additifs utilisés, y compris gels ou barrières physiques, activateurs de la coagulation et/ou anticoagulants. Le coffret AFP IMMULITE/IMMULITE 1000

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 16<sup>ème</sup> et la 18<sup>ème</sup> semaine, et entre la 16<sup>ème</sup> et la 20<sup>ème</sup> semaine pour le liquide amniotique. Les échantillons sériques doivent être prélevés avant l'amniocentèse étant donné que cette dernière est susceptible d'entraîner des taux de sérum maternel élevés erronés pendant 2 à 3 semaines.

#### **Volume nécessaire**

**Sérum** : 10 µl. (L'unité-échantillon doit contenir au moins 100 µl de plus que le volume total nécessaire.)

**Liquide amniotique** : 10 µl de spécimen prédilué de liquide amniotique. (L'unité-échantillon doit contenir au moins 100 µl de plus que le volume total nécessaire.)

Tous les échantillons de liquide amniotique doivent d'abord être dilués au 1 : 101 à l'aide d'AFP Sample Diluent, par exemple en ajoutant 10 µL de liquide amniotique à 1,0 ml d'AFP Sample Diluent. Pour obtenir la concentration finale d'alpha-fœtoprotéine, multipliez les résultats de l'échantillon dilué par le facteur de dilution.

#### **Conservation**

**Sérum** : 3 jours à 2–8°C. Congeler à –20°C si le dosage n'a pas lieu 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. 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 code-barre sont nécessaires au dosage.

#### Tests unitaires AFP (LAP1)

Avec code-barre. Chaque unité-test contient une bille revêtue d'un anticorps monoclonal murin anti-AFP. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.

**LKAP1** : 100 unités

Porter les sachets à température ambiante avant d'ouvrir. Ouvrir le sachet avec des ciseaux en préservant le dispositif de fermeture. Refermer les sachets pour les protéger de l'humidité.

#### Cartouches de réactif AFP (LAPA, LAPB)

Avec code-barre. **LAPA** : un flacon (7,5 ml) de matrice tampon / protéines non-humaines dans un tampon.

**LAPB** : un flacon (7,5 ml) d'anticorps polyclonal de lapin anti-AFP marqué à la phosphatase alcaline (intestins de veau) dans un tampon. Conserver bouchés et réfrigérés : stables à 2–8°C jusqu'à la date de péremption. A utiliser de préférence dans les 30 jours qui suivent l'ouverture, si les recommandations de stockage sont respectées.

**LKAP1** : 1 jeu

#### Ajusteurs AFP (LAPL, LAPH)

2 flacons (« haut » et « bas »), 2 ml chacun, d'AFP dans une matrice de sérum bovin. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.

**LKAP1** : 1 jeu

## Composants du coffret fournis séparément

#### Diluant échantillon AFP (LAPZ)

Pour la dilution manuelle des échantillons sériques élevés et des échantillons de liquide amniotique. 25 ml de matrice sérique bovine sans AFP avec conservateur. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.

**L'analyse du liquide amniotique requiert une dilution au 1 : 101 de l'échantillon (dilution manuelle avec AFP Sample Diluent). Pour obtenir la concentration finale d'alpha-fœtoprotéine, les résultats de l'échantillon dilué doivent être multipliés par le facteur de dilution.**

**LSUBX** : Substrat chimiluminescent

**LPWS2** : Solution de lavage

**LKPM** : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

**LCHx-y** : Supports pour godets échantillons (avec code-barre)

**LSCP** : Godets échantillons (à usage unique)

**LSCC** : Bouchons pour godets échantillons (optionnel)

Egalement requis

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 d'Utilisation IMMULITE ou IMMULITE 1000.

Voir le manuel d'utilisation de l'IMMULITE ou de l'IMMULITE 1000 pour la préparation, le démarrage du système, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Vérifier visuellement que chaque Unité-Test contient bien une bille avant de la charger dans l'automate.

**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 sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) de 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

Dans une étude réalisée sur deux sites, 119 échantillons sériques provenant d'hommes apparemment en bonne santé (âge médian: 61, centré à 95 %: 27 à 79 ans) ont été dosés avec le test IMMULITE AFP. Les résultats allaient de 0,5 à 5,5 UI/ml, avec une médiane à 1,6 UI/ml et un 99<sup>ème</sup> percentile à 5 UI/ml.

L'étude comprenait également des hommes atteints de cancer testiculaire, des patients atteints d'autres cancers (foie, vessie, rein, pancréas, poumon, prostate et colon) ; patients atteints de pathologies non malignes (telles que cirrhose, hépatite B et C, colite ulcéreuse, emphysème, polypes colorectaux) ; et quelques femmes apparemment en bonne santé. Les résultats avec le test IMMULITE AFP sont indiqués dans le tableau ci-dessous (avec le nombre total pour chaque groupe entre parenthèses).

UI/ml	< 5	5–15	15–100	> 100
<b>Hommes</b>				
Hommes en bonne santé (119)	118	1	—	—
Cancer testiculaire séminomateux (6)	6	—	—	—
Cancer testiculaire non séminomateux (60)	14	8	15	23

UI/ml	< 5	5–15	15–100	> 100
Cancer du foie (10)	3	—	2	5
Autres cancers (40)	36	1	—	3
Cirrhose (4)	3	1	—	—
Hépatite (24)	19	4	1	—
Autres pathologies non malignes (6)	5	—	—	1
<b>Femmes</b>				
Femmes en bonne santé (29)	29	—	—	—
Cancers (20)	18	—	1	1
Pathologies non malignes (16)	15	—	1	—

Utiliser ces valeurs à titre indicatif uniquement. Chaque laboratoire devra 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 de forme pure ne s'accompagnent pas de taux d'AFP sérique élevés. Néanmoins, on a pu observer des taux d'AFP élevés chez des patients ayant un séminome avec des métastases de cancers testiculaires non séminomateux.<sup>8</sup>

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 hépatites ou cirroses. La plupart des patients (95 %) atteints de ce type de pathologies bénignes ont des taux d'AFP inférieurs à 200 ng/ml (165 UI/ml).<sup>8-15</sup>

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

En raison des divergences possibles entre les essais effectués dans des laboratoires différents, il est recommandé qu'un centre d'essais particulier définisse sa propre échelle de valeurs médianes d'alpha-fœtoprotéine pour la période comprise entre la 15<sup>ème</sup> et la 20<sup>ème</sup> semaine de la gestation, mesurées dans la population à tester. Les valeurs d'inclusion comprennent habituellement des multiples des médianes (MoM) de 2,0 ou 2,5 pour les essais du sérum maternel et du liquide amniotique. Chaque résultat des essais d'alpha-fœtoprotéine peut alors être exprimé en un multiple de la médiane constante de la population. Ce résultat est obtenu en divisant la valeur d'alpha-fœtoprotéine par la valeur médiane pour la semaine de gestation correspondante. Les semaines de gestation sont définies comme semaines de gestation complètes ; par exemple, 16 semaines et 6 jours seront considérés comme la 16<sup>ème</sup> 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.

Ci-dessous, les médianes pour les échantillons sériques maternels obtenues avec les dosages IMMULITE et IMMULITE 2000 AFP, calculées à partir d'une régression log-linéaire pondérée des données collectées lors de grossesses normales et non multiples dans 3 sites cliniques des 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 pour le diagnostic de cancer testiculaire non séminomateux.

**Dépistage :** Le dosage de l'AFP ne peut pas être prescrit comme test de dépistage d'un cancer dans une population normale. Des concentrations sériques 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 telles 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. Toutes les données, exceptées les comparaisons entre les analyseurs IMMULITE et IMMULITE 1000, ont été générées par l'analyseur IMMULITE. 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

**Domaine de mesure :** jusqu'à 300 UI/ml (363 ng/ml) (OMS 1st IS 72/225)

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

### Effet-crochet :

aucune jusqu'à 450 000 UI/ml

**Précision :** 7 échantillons sont dosés en double pendant 20 jours, deux séries par jour, soit 40 séries et 80 résultats au total. (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.)

**Récupération :** Des échantillons sériques dilués au 1:20 avec trois solutions d'alpha-fœtoprotéine (9,8, 31 et 67 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) :** Un effet léger mais statistiquement significatif (par *t*-test). (Voir le tableau « Bilirubin ».)

**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 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.

**Comparaison de méthode – études du cancer testiculaire :** La dosage a été comparé à un dosage légalement commercialisé (Coffret C) sur deux sites cliniques. Dans le premier (dans le nord-ouest des Etats-Unis), 264 échantillons ont été évalués, comprenant des échantillons provenant d'hommes atteints de cancers testiculaires non séminomateux, et d'autres pathologies malignes et non malignes, ainsi que de femmes. Les résultats ont été comparés qualitativement par rapport aux seuils correspondant au 99<sup>ème</sup> percentile d'une population d'hommes sains — soit 5 UI/ml pour l'IMMULITE et 8,9 ng/ml (7,36 UI/ml) pour l'Coffret C.

	IMMULITE AFP		Sensibilité relative (95% CI)	Spécificité relative (95% CI)
Coffret C	Pos	Nég		
Positif	74	4	94,9%	97,3%
Négatif	5	181	(87,4–98,6%)	(93,8–99,1%)

Concordance: 96,6%

Sur le second site (dans le sud des Etats-Unis), 213 échantillons ont été étudiés, comprenant des échantillons provenant

d'hommes atteints de **cancers testiculaires** séminomateux et non-séminomateux, et d'autres cancers, ainsi que des échantillons provenant de quelques femmes.

Coffret C	IMMULITE AFP		Sensibilité relative (95% CI)	Spécificité relative (95%CI)
	Pos	Nég		
Positif	62	3	95,4%	97,3%
Négatif	4	144	(87,1–99,0%)	(93,2–99,3%)

Concordance 96,7%

Les 424 résultats des deux sites compris dans le domaine de mesure des deux dosages ont également été analysés par régression linéaire:

(IML AFP) = 0,83 (Coffret C) – 0,17 UI/ml  
 $r = 0,99$   
 $n = 424$

95% de l'intervalle de confiance (IC)	Pente	Interception
Inférieur	0,81	-0,65
Haut	0,84	0,31

### Comparaison de méthodes – études des malformations du tube neural :

dans deux études cliniques distinctes réalisées aux États-Unis, les résultats d'IMMULITE 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) = 0,83 (Coffret B) + 6,51 UI/ml  
 $r = 0,97$   
 $n = 1\ 006$

95% de l'intervalle de confiance (IC)	Pente	Interception
Inférieur	0,82	5,93
Haut	0,85	7,09

(IML) = 0,87 (Kit A) + 2,72 UI/ml  
 $r = 0,96$   
 $n = 346$

95% de l'intervalle de confiance (IC)	Pente	Interception
Inférieur	0,84	1,64
Haut	0,89	3,79

Dans l'une des études ci-dessus, les résultats d'IMMULITE AFP ont également été comparés au Kit B en régression linéaire pour les échantillons de **liquide amniotique** dans la gamme du non détectable à 173 kUI/ml\*.

(IML) = 0,78 (Kit B) + 0,17 kUI/ml  
 $r = 0,99$   
 $n = 185$

95% de l'intervalle de confiance (IC)	Pente	Interception
Inférieur	0,76	-0,19
Haut	0,79	0,53

\* Les échantillons de liquide amniotique ont été dilués au 1:101 en différé avant leur essai par IMMULITE.

Le dosage a également été comparé à IMMULITE 2000 AFP sur des échantillons de liquide amniotique, dans la gamme d'environ 3 à 20 kUI/ml\*. (Voir la Comparaison de Méthode 1 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 au 1:101 en différé avant leur essai par IMMULITE.

Le dosage a également été comparé à IMMULITE 2000 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 = 13 :**

Semaine de gestation	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15–20	92,3%	69,2%	69,2%
95% de l'IC pour tous les échantillons	64,0%–99,8%	38,6%–90,9%	38,6%–90,9%

**Spécificité clinique pour le sérum maternel :**

Semaine de gestation	n	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	173	96,0%	98,8%	98,8%
16	411	98,1%	99,3%	99,5%
17	372	96,5%	99,7%	100%
18	204	95,1%	99,0%	100%
19	108	94,4%	99,1%	100%
20	50	100%	100%	100%
15–20	1318	96,7%	99,3%	99,7%
95% de l'IC pour tous les échantillons		95,5%–97,6%	98,7%–99,7%	99,2%–99,9%

**Sensibilité clinique pour le liquide amniotique, n = 10 :**

Semaine de gestation	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15–20	90,0%	90,0%	90,0%
95% de l'IC pour tous les échantillons	55,5%–99,8%	55,5%–99,8%	55,5%–99,8%

**Spécificité clinique pour le liquide amniotique :**

Semaine de gestation	n	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	23	100%	100%	100%
16	39	97,4%	100%	100%
17	25	100%	100%	100%
18	34	94,1%	97,1%	100%
19	33	100%	100%	100%
20	13	100%	100%	100%
15–20	167	98,2%	99,4%	100%
95% de l'IC pour tous les échantillons		94,8%–99,6%	96,7%–100%	97,8%–100%

**Comparaison de méthode avec du sérum maternel – IMMULITE 1000 vs IMMULITE:** Un total de 110 spécimens de sérums maternels a été testé avec le dosage AFP sur les systèmes IMMULITE et IMMULITE 1000. (Voir la Comparaison de Méthode 2 sur le graphique Sérum Maternel.) Par régression linéaire:

$$(IML\ 1000) = 0,99 (IML) + 0,13\ UI/ml$$

$$r = 0,996$$

Moyennes :  
2,88 UI/ml (IML 1000)  
2,77 UI/ml (IML)

**Comparaison de méthode avec du liquide amniotique – IMMULITE 1000 vs IMMULITE:** Un total de 91 spécimens de liquide amniotique a été testé avec le dosage AFP sur les systèmes IMMULITE et IMMULITE 1000. (Voir la Comparaison de Méthode 3 sur le graphique Liquide Amniotique.) Par régression linéaire:

$$(IML\ 1000) = 1,00 (IML) - 0,05\ kUI/ml^*$$

$$r = 0,991$$

Moyennes :  
11,5 kUI/ml (IML 1000)  
11,5 kUI/ml (IML)

\*Les échantillons de liquide amniotique ont été dilués au 1 : 101 en différé avant leur essai par IMMULITE et IMMULITE 1000.

**Assistance technique**

Contactez votre distributeur national.

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

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

---

## Italiano

---

### IMMULITE AFP

**Uso:** Ad uso diagnostico *in vitro* con gli Analizzatori IMMULITE ed IMMULITE 1000 — 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: **LKAP1** (100 test)

Codice del Test: **AF**

Colore: **Grigio Chiaro**

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

### Riassunto e Spiegazione del Test

L'Alfafetoproteina (AFP) è una glicoproteina a catena singola con una massa molecolare di circa 70 000 dalton. L'AFP presenta un'affinità alquanto accentuata nella sua 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.<sup>1,2,3</sup> 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 patologie benigne e maligne.

### Cancro dei Testicoli

Livelli elevati di AFP sono stati riscontrati non solo in pazienti con cancro testicolare non seminomatoso, ma anche in pazienti con altre patologie maligne quali carcinoma epatocellulare, carcinoma ovarico, gastrointestinale e polmonare.<sup>8-15</sup> 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.<sup>8-15</sup>

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.<sup>9,16,18,19</sup> Durante la chemioterapia, pazienti con seminoma avanzato e disfunzioni epatiche hanno presentato livelli elevati di AFP nel siero.<sup>20</sup> 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.<sup>8,15,21</sup>

L'utilità clinica della misurazione dell'AFP quale ausilio nella gestione di pazienti con carcinoma testicolare non seminomatoso è ben documentata.<sup>9,16,17,18,22</sup>

La misurazione dell'AFP ha trovato applicazione clinica per la determinazione dello stadio della malattia.<sup>18,22-26</sup>

E' stato dimostrato che misurazioni seriali di AFP riflettono l'efficacia dei trattamenti terapeutici in pazienti con tumori testicolari non seminomatosi.<sup>9,15,17,26,27</sup> 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.<sup>9,15,28,29</sup> Nell'interpretazione

delle concentrazioni post-operatorie e' importante valutare la velocità della diminuzione dei valori.<sup>21,22,24,25</sup> Quando viene utilizzata l'AFP per monitorare la terapia o per diagnosticare un'eventuale recidiva, occorre notare che spesso i livelli decadono rapidamente durante la chemioterapia, fino a raggiungere livelli normali, mentre le masse tumorali sono ancora evidenti.<sup>17,21</sup> In tali circostanze, si consiglia il completamento della terapia pianificata.<sup>21</sup>

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

#### **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.<sup>34</sup> La concentrazione di AFAFP raggiunge un picco intorno alla 12° settimana e la MSAFP raggiunge un picco intorno alla 28°-32° settimana di gravidanza.<sup>36</sup> 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.<sup>34</sup> 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;<sup>35</sup> 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.<sup>35, 37</sup> Queste condizioni vengono riscontrate nei Difetti del Tubo Neurale Aperto inclusa la Spina Bifida e l'Anencefalia, l'Omfalocele e la Nefrosi Congenita.<sup>32,38</sup> 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.<sup>35</sup>

Sono stati pubblicati i protocolli consigliati per lo screening dei Difetti del Tubo Neurale Aperto.<sup>33,35</sup> I livelli di cutoff nel siero materno e nel fluido amniotico possono essere scelti per ottimizzare le necessità della popolazione sottoposta a test e basati sulla prevalenza variabile dei Difetti del Tubo Neurale Aperto. I cutoff usano comunemente i multipli della mediana di 0,2 o 2,5 per il test dell'MSAFP e dell'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.<sup>35</sup>

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'immunolettroforesi controcorrente e l'immunolettroforesi a razzo sono tre tecniche idonee per applicazioni di ricerca. I dosaggi immunoassorbenti enzima-legati ed i radioimmunosaggi di tipo competitivo e non competitivo sono stati utilizzati con successo clinico sia per determinazioni su siero materno che su liquido amniotico.

**Nota:** il Depliant illustrativo per il Medico sull'AFP IMMULITE (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 telefonando al Vostro Distributore Nazionale.

## Principio del Dosaggio

Il dosaggio IMMULITE/IMMULITE 1000 AFP è un dosaggio immunometrico sequenziale in chemiluminescenza a due siti ed in fase solida.

**Cicli d'incubazione:** 2 × 30 minuti

## Prelievo dei Campioni

**Siero:** Effettuare il prelievo di sangue<sup>31</sup> in provette semplici e separare il siero dalle cellule prima possibile. I campioni devono essere prelevati prima dell'amniocentesi per ottenere un campione idoneo al test.

I campioni lipemici devono essere schiariti con l'utilizzo di un'ultracentrifuga prima di effettuare il dosaggio del siero.

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

I campioni itterici o grossolamente contaminati possono produrre risultati errati.

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

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. L'IMMULITE/IMMULITE 1000 AFP non è stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette.

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

dal liquido amniotico attraverso centrifugazione.

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

#### **Volume Richiesto**

**Siero:** 10 µL (il porta campioni deve contenere almeno 100 µL più del volume totale richiesto).

**Liquido Amniotico:** 10 µL di un campione prediluito di liquido amniotico (il porta campioni deve contenere almeno 100 µL più del volume totale richiesto).

Tutti i campioni di liquido amniotico devono prima essere diluiti 1:101 utilizzando il Diluente del Campione AFP ad es.: aggiungendo 10 µL di liquido amniotico a 1,0 mL di Diluente del Campione. I risultati del campione diluito devono essere moltiplicati per il fattore di diluizione per ottenere la concentrazione finale di AFP.

#### **Conservazione**

**Siero:** 3 giorni a 2–8°C. Congelare a –20°C se non utilizzato entro 3 giorni.

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

## **Avvertenze e Precauzioni**

Ad uso diagnostico *in vitro*.

**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 vigenti.

Seguire le precauzioni generali, 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.

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 set misto. Le etichette con codice a barre sono necessarie per eseguire il dosaggio.

### **Test Unit AFP (LAP1)**

Ogni test unit con codice a barre contiene una sferetta coattata con un anticorpo monoclonale murino anti-AFP. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

**LKAP1:** 100 unit

Le buste delle test unit devono essere portate a temperatura ambiente prima dell'utilizzo. Aprire tagliando lungo il bordo superiore, lasciando intatta la chiusura ermetica. Risigillare le buste per proteggere le sferette dall'umidità.

### **Porta Reagenti AFP (LAPA, LAPB)**

Con codice a barre. **LAPA:** un porta reagenti (7,5 mL) contenente una matrice/tampone di siero non umano a base proteica. **LAPB:** un porta reagenti (7,5 mL) contenente fosfatasi alcalina

(intestino di vitello) coniugata con un anticorpo policlonale di coniglio anti-AFP in un tampone. Conservare sigillato nel frigorifero: stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza. Si consiglia di utilizzare il prodotto entro 30 giorni dall'apertura se conservato nella maniera indicata.

**LKAP1:** 1 set

#### **Calibratori AFP (LAPL, LAPH)**

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

**LKAP1:** 1 set

### **Componenti del Kit Forniti Separatamente**

#### **Diluyente per Campioni AFP (LAPZ)**

Per la diluizione manuale interna di campioni elevati di siero e campioni di liquido amniotico. 25 mL di una matrice di siero bovino priva di AFP, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

**L'analisi del liquido amniotico richiede una diluizione del campione 1:101 (diluizione manuale con il Diluyente del Campione AFP). I risultati del campione diluito devono essere moltiplicati per il fattore di diluizione per ottenere la concentrazione finale di AFP.**

**LSUBX:** Substrato Chemiluminescente

**LPWS2:** Tampone di Lavaggio dell'Ago

**LKPM:** Kit di Pulizia dell'Ago

**LCHx-y:** Tubi Porta Campione (con codice a barre)

**LSCP:** Porta Campioni (monouso)

**LSCC:** Coperchi per Porta Campioni (opzionali)

Materiali richiesti

Pipette per la dispensazione dei campioni; acqua distillata o deionizzata

### **Procedura del Dosaggio**

Attenzione: per prestazioni ottimali, è importante effettuare le procedure di manutenzione di routine cosiccome definito nel Manuale dell'Operatore IMMULITE o IMMULITE 1000.

Vedi il Manuale dell'Operatore IMMULITE o IMMULITE 1000 per preparazione, setup, diluizioni, calibrazione, dosaggio e controllo di qualità.

Controllate ogni test unit verificando la presenza della sferetta prima di caricarla sullo strumento.

#### **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.

Usare i controlli o i campioni di siero con almeno due livelli (Basso ed Alto) 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**

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 buono stato di 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 ed un 99° percentile di 5 IU/mL.

Lo studio comprendeva inoltre uomini affetti da cancro testicolare; pazienti con altri tumori maligni (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 ed al retto); ed alcune donne in apparente buono stato di salute. La distribuzione dei risultati con il dosaggio IMMULITE AFP è indicata qui di seguito (con il numero totale per ciascun gruppo in parentesi).



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

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

Per pazienti affetti da cancro testicolare non seminomatoso si prevede di avere una distribuzione di valori AFP compresi e al di sopra del range di riferimento per adulti maschi in apparente buono stato di 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 accompagnato da metastasi di cancro testicolare non seminomatoso.<sup>8</sup>

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

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

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

A causa di variazioni potenziali nei test effettuati da laboratori differenti, si consiglia ad ogni laboratorio di determinare il proprio set di valori 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 sono riportati i valori mediani per i campioni di siero materno, generati utilizzando i dosaggi IMMULITE ed IMMULITE 2000 AFP, calcolati attraverso una regressione log-lineare da dati raccolti da donne sane in gravidanza con feto singolo presso tre Centri Clinici negli Stati Uniti.

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

\*Valori Regressi

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

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

\*Valori Regressi

## Limiti

**Diagnosi:** Il verificarsi di livelli elevati di AFP nel siero in malattie differenti dal cancro testicolare non seminomatoso impedisce l'uso delle determinazioni 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 in pazienti con tumori maligni quali il carcinoma epatocellulare, il cancro delle ovaie 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 tirossinemia 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 in 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* delle prestazioni del dosaggio. Tutti i dati, ad eccezione delle comparazioni tra gli analizzatori IMMULITE ed IMMULITE 1000 sono stati generati utilizzando l'IMMULITE. I risultati sono espressi in IU/mL. Se non diversamente indicato, tutti i valori sono stati generati da campioni di siero raccolti da pazienti con cancro dei testicoli.

### Fattore di Conversione:

IU/mL × 1,21 → ng/mL

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

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

### Effetto Gancio per dosi elevate:

Nessun effetto fino a 450 000 IU/mL

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

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

**Recupero:** Sono stati dosati 1:20 campioni di siero cui sono state aggiunte 3 soluzioni di AFP (9,8, 31 e 67 IU/mL). Sono stati dosati 1:20 campioni di liquido amniotico cui sono state aggiunte 3 soluzioni di AFP (10 000, 20 000 e 36 000 IU/mL). (Vedi la tabella "Recovery" per dati rappresentativi.)

**Specificità:** Il dosaggio è altamente specifico per l'AFP. (Vedi la tabella "Specificity".)

**Bilirubina (non Coniugata):** moderato effetto, ma statisticamente significativo (con *t*-test). (Vedi Tabella "Bilirubin".)

**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 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.

#### Comparazione di Metodi – Studi sul

**Cancro dei Testicoli:** Il dosaggio è stato comparato ad un dosaggio disponibile in commercio (Kit C) in due laboratori clinici. Nel primo Centro (nella parte Nord-Ovest degli Stati Uniti) sono stati dosati un totale di 264 campioni, compresi campioni provenienti da pazienti maschi con **cancro testicolare non seminomatoso** ed altre patologie maligne e non, come anche campioni di alcune pazienti. I risultati sono stati comparati in maniera qualitativa, rispetto ai valori di cutoff basati sul 99° percentile per uomini sani – cioè 5 IU/mL per l'IMMULITE, e 8,9 ng/mL (7,36 IU/mL) per il Kit C.

Kit C	IMMULITE AFP		Sensibilità	Specificità
	Pos	Neg	relativa (95% CI)	relativa (95% CI)
Positivo	74	4	94,9%	97,3%
Negativo	5	181	(87,4– 98,6%)	(93,8– 99,1%)

Correlazione: 96,6%

Nel secondo Centro clinico (nel Sud degli Stati Uniti), è stato analizzato un totale di 213 campioni, compresi campioni provenienti da pazienti maschi con **cancro testicolare non-seminomatoso** ed altre patologie maligne e non, ed anche campioni di alcune pazienti.

Kit C	IMMULITE AFP		Sensibilità	Specificità
	Pos	Neg	relativa (95% CI)	relativa (95%CI)
Positivo	62	3	95,4%	97,3%
Negativo	4	144	(87,1– 99,0%)	(93,2– 99,3%)

Correlazione 96,7%

I 424 risultati dei due Centri rientravano entro il range di entrambi i dosaggi e sono stati paragonati mediante regressione lineare:

$$(IML) = 0,83 (\text{Kit C}) - 0,17 \text{ IU/mL}$$

$$r = 0,99$$

$$n = 424$$

95% Intervallo di Confidenza (CI)	Curva	Intercetta
Inferiore	0,81	-0,65
Superiore	0,84	0,31

#### 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 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 rilevabile a 300 IU/mL.

$$(IML) = 0,83 (\text{Kit B}) + 6,51 \text{ IU/mL}$$

$$r = 0,97$$

$$n = 1\ 006$$

95% Intervallo di Confidenza (CI)	Curva	Intercetta
Inferiore	0,82	5,93
Superiore	0,85	7,09

(IML) = 0,87 (Kit A) + 2,72 IU/mL  
 r = 0,96  
 n = 346

95% Intervallo di Confidenza (CI)	Curva	Intercetta
Inferiore	0,84	1,64
Superiore	0,89	3,79

In uno degli studi di cui sopra, i risultati del dosaggio IMMULITE 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 173 kIU/mL\*.

(IML) = 0,78 (Kit B) + 0,17 kIU/mL  
 r = 0,99  
 n = 185

95% Intervallo di Confidenza (CI)	Curva	Intercetta
Inferiore	0,76	-0,19
Superiore	0,79	0,53

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

Il dosaggio è stato anche comparato al dosaggio IMMULITE 2000 su campioni di liquido amniotico nel range approssimativamente da 3 a 20 kIU/mL\*.  
 (Vedi grafico "Method Comparison 1".)  
 Attraverso regressione lineare:

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

Valori 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.

Il dosaggio è stato anche comparato con il dosaggio IMMULITE 2000 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 = 13:

Settimana di Gestazione	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15-20	92,3%	69,2%	69,2%
95% CI per tutti i Campioni	64,0%–99,8%	38,6%–90,9%	38,6%–90,9%

### Specificità Clinica per Campioni di Siero Materno:

Sett. di Gestazione	n	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	173	96,0%	98,8%	98,8%
16	411	98,1%	99,3%	99,5%
17	372	96,5%	99,7%	100%
18	204	95,1%	99,0%	100%
19	108	94,4%	99,1%	100%
20	50	100%	100%	100%
15-20	1318	96,7%	99,3%	99,7%
95% CI per tutti i Campioni		95,5%–97,6%	98,7%–99,7%	99,2%–99,9%

**Sensibilità Clinica per Campioni di Liquido Amniotico**  
n = 10:

Settimana di Gestazione	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15–20	90,0%	90,0%	90,0%
95% per tutti i Campioni	55,5%–99,8%	55,5%–99,8%	55,5%–99,8%

**Specificità Clinica per Campioni di Liquido Amniotico:**

Sett. di Gestazione	n	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	23	100%	100%	100%
16	39	97,4%	100%	100%
17	25	100%	100%	100%
18	34	94,1%	97,1%	100%
19	33	100%	100%	100%
20	13	100%	100%	100%
15–20	167	98,2%	99,4%	100%
95% per tutti i Campioni		94,8%–99,6%	96,7%–100%	97,8%–100%

**Comparazione dei Metodi con Siero Materno – IMMULITE 1000 vs. IMMULITE:**

Sono stati dosati un totale di 110 campioni di siero materno testati con il dosaggio IMMULITE ed IMMULITE 1000 AFP utilizzando entrambi i sistemi. (Vedi grafico "Method Comparison 2".)  
Attraverso regressione lineare:

$$(IML\ 1000) = 0,99 (IML) + 0,13\ IU/mL$$

$$r = 0,996$$

Valore medio:  
2,88 IU/mL (IML 1000)  
2,77 IU/mL (IML)

**Comparazione dei Metodi con Liquido Amniotico – IMMULITE 1000 vs. IMMULITE:**

Sono stati dosati un totale di 91 campioni di liquido amniotico con il dosaggio IMMULITE ed IMMULITE 1000 AFP utilizzando entrambi i sistemi. (Vedi grafico "Method Comparison 3".)  
Attraverso regressione lineare:

$$(IML\ 1000) = 1,00 (IML) - 0,05\ kIU/mL^*$$

$$r = 0,991$$

Valore medio:  
11,5 kIU/mL (IML 1000)  
11,5 kIU/mL (IML)

\*I campioni di liquido amniotico sono stati diluiti 1:101 fuori linea prima di essere dosati con l'IMMULITE ed IMMULITE 1000.

**Assistenza Tecnica**

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

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

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

**Português**

**IMMULITE AFP**

**Utilização:** Para o diagnóstico *in vitro* nos analisadores IMMULITE e IMMULITE 1000 — 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.

Número de catálogo: **LKAP1** (100 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 rapidamente até perto do nascimento<sup>1,2,5</sup>. O ressurgimento de valores elevados de AFP têm sido observados não só durante a gravidez, mas também em conjunto com muitas doenças benignas e malignas.

### Cancro dos testículos

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

sido apresentadas com elevadas concentrações de AFP<sup>8-15</sup>.

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

Doseamentos periódicos de AFP têm demonstrado eficácia no regime terapêutico de pacientes com tumores testiculares diferentes de seminoma<sup>9,15,17,26,27</sup>. Doseamentos de AFP após cirurgia são particularmente valiosos. A presença de tumor residual é fortemente sugerida se as concentrações de AFP após cirurgia não voltarem ao normal<sup>9,15,28,29</sup>. Uma interpretação exacta de alterações na concentração de AFP pós-operatória requer considerações sobre o decréscimo do metabolismo desta glicoproteína<sup>21,22,24,25</sup>. Quando se utiliza AFP para monitorização terapêutica ou 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<sup>17,21</sup>. Em tais circunstâncias, tem sido recomendado a continuação da terapêutica<sup>21</sup>.

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

## **Defeitos na abertura do tubo neural do feto**

A AFP é detectável não apenas no soro do feto, mas também no líquido amniótico e soro materno. Existe uma concentração niveladora tal que quando o nível de AFP no soro do feto é de 2000 kIU/mL, o nível de AFP (AFAFP) no líquido amniótico é de 20 kIU/mL, e a AFP (MSAFP) no soro materno é de 0,02 kIU/mL. Numa gravidez normal, a concentração de AFP no soro do feto atinge o nível máximo na 14<sup>a</sup> semana de gestação<sup>34</sup>. 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<sup>36</sup>. 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 líquido<sup>34</sup>. 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,<sup>35</sup> as gravidezes associadas a NTDs abertos apresentam elevados níveis de AFP. O excesso de AFP ganha acesso ao líquido amniótico e, em menor escala, ao soro materno, por transudação através da superfície exposta do feto ou através de um glomérulo danificado<sup>35,37</sup>. Estas condições encontram-se em NTDs abertos incluindo spina bifida aberta e anencefalia, onfalocele, e nefrose congénita<sup>32,38</sup>. Causas adicionais de concentrações elevadas de AFP incluindo tanto fontes maternas como do feto são eminência de aborto espontâneo, indisposição ou morte do feto, oligoâmnios, toxemia, gastroschisis, síndrome de Meckel, teratoma sacrococcígeo, síndrome de Turner e doenças hepáticas e oncológicas maternas<sup>35</sup>.

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

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

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

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 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

A AFP IMMULITE/IMMULITE 1000 é um ensaio imunométrico em fase sólida quimioluminescente seqüencial de duas voltas.

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

## Colheita

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

As amostras lipémicas devem ser clarificadas com a ajuda de um ultracentrífugo antes da análise do soro.

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

Amostras ictericas ou totalmente contaminadas podem causar resultados errados.

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

Os tubos para colheita sanguínea de diferentes fabricantes, podem originar diferentes valores, dependendo dos materiais e aditivos, incluindo gel ou barreiras físicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE/IMMULITE 1000 AFP não foram ainda

testados com todas as possíveis variações originadas pelos tipos de tubos.

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

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

## Volume de Amostra

**Soro:** 10 µL (cuvete de amostra deve conter um mínimo de 100 µL a mais que o volume total exigido).

**Líquido amniótico:** 10 µL de um espécimen de líquido amniótico pré-diluído (cuvete de amostra deve conter um mínimo de 100 µL a mais que o volume total exigido).



Todas as amostras de líquido amniótico devem ser primeiro diluídas 1-em-101 utilizando o Diluente da Amostra AFP, i.e. juntando 10 µL de líquido amniótico para 1,0 mL de Diluente da Amostra AFP. Os resultados da amostra diluída devem ser multiplicados pelo factor diluição para obter a concentração final de AFP.

### Estabilidade

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

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

### Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

**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:** Use 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.

#### Unidades de Teste de AFP (LAP1)

Cada unidade identificada com código de barras contém uma esfera revestida com anticorpo monoclonal de rato anti-AFP. Estável até a data de validade a 2–8°C.

**LKAP1:** 100 unidades

Antes de abrir as saquetas com Unidades de Teste, deixe que estas atinjam a temperatura ambiente. Corte as saquetas pela borda superior, mantendo o fecho intacto. Feche novamente as saquetas para proteger contra a humidade.

#### Embalagens de Reagente de AFP (LAPA, LAPB)

Com código de barras. **LAPA:** uma embalagem (7,5 mL) contendo uma matriz proteica tamponizada de soro de origem não humana. **LAPB:** uma embalagem (7,5 mL) contendo fosfatase alcalina (de intestino bovino) conjugada com anticorpo policlonal de coelho anti-AFP tamponizada. Armazene tapado e refrigerado: Estável até à data de validade a 2–8°C. Recomenda-se a utilização até 30 dias após aberto quando armazenado de acordo com as indicações.

**LKAP1:** 1 conjunto

#### Ajustes de AFP (LAPL, LAPH)

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

**LKAP1:** 1 conjunto

## Componentes do kit fornecidos separadamente

### Diluyente de Amostra de AFP (LAPZ)

Para a diluição manual das amostras com elevado teor de soro e das amostras de líquido amniótico. 25 mL numa matriz de soro bovino livre de AFP, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

**A análise do líquido amniótico requer uma diluição da amostra 1-em-101 (diluição manual da com diluyente da amostra AFP). Os resultados da amostra diluída devem ser multiplicados pelo factor diluição para obter a concentração final de AFP.**

**LSUBX:** Substrato quimioluminescente

**LPWS2:** Solução de lavagem

**LKPM:** Kit de limpeza do pipetador

**LCHx-y:** Suportes de Cuvetes de Amostra (com código de barras)

**LSCP:** Cuvetes de Amostra (descartáveis)

**LSCC:** Tampa de Cuvetes de Amostra (opcional)

Também necessário

Pipetas de transferência de amostra; água destilada ou desionizada

## Procedimento de doseamento

Têr em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador do IMMULITE ou IMMULITE 1000.

Ver o Manual do Operador do IMMULITE ou IMMULITE 1000 para preparação, setup, diluições, ajustes, procedimento do ensaio e controlo de qualidade.

Confirme a presença da esfera em cada Unidade de Teste antes de a colocar no sistema.

**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 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

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

O estudo também incluiu homens com cancro do testículo; doentes com outras situações malignas (do fígado, bexiga, rim, pâncreas, pulmão, próstata e cólon), doentes com situações não malignas (como cirrose, hepatite B e C, colite ulcerosa, uloenfisema, pólipos no cólon e reto); e algumas mulheres aparentemente saudáveis. A distribuição dos resultados de IMMULITE AFP está tabelada abaixo (com o número total para cada grupo entre parênteses).

IU/mL:	< 5	5–15	15–100	> 100
<b>Homens</b>				
Homens Saudáveis (119)				
	118	1	—	—
Cancro do testículo seminomatoso (6)				
	6	—	—	—
Cancro do testículo não seminomatoso (60)				
	14	8	15	23
Cancro do fígado (10)				
	3	—	2	5
Outas doenças malignas (40)				
	36	1	—	3

IU/mL:	< 5	5–15	15–100	> 100
Cirrose (4)	3	1	—	—
Hepatite (24)	19	4	1	—
Outras doenças não malignas (6)	5	—	—	1
<b>Mulheres</b>				
Mulheres Saudáveis (29)	29	—	—	—
Doenças malignas (20)	18	—	1	1
Doenças não malignas (16)	15	—	1	—

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

Doentes com carcinoma testicular não seminomatoso podem apresentar uma distribuição dos valores de AFP tanto dentro ou acima dos limites de valores de referência para homens aparentemente saudáveis. Em forma pura, seminomas não apresentam níveis elevados de AFP no soro. Porém, níveis elevados de AFP foram observados em doentes diagnosticados com seminomas acompanhados de metástase de cancro do testículo não seminomatoso<sup>8</sup>.

Um aumento significativo dos níveis de AFP em doentes sem tumor metastático pode indicar o desenvolvimento de metástases. Níveis elevados após cirurgia, podem indicar remoção incompleta do tumor ou presença de metástases.

Níveis elevados de AFP no soro estão associados com doenças benignas do fígado como hepatite e cirrose. A maioria (95%) dos doentes com estas doenças benignas possui níveis de AFP abaixo de 200 ng/mL (165 IU/mL)<sup>8-15</sup>.

### Níveis de AFP no soro materno e no líquido amniótico

Devido à variação potencial nas análises efectuadas em diferentes laboratórios, recomenda-se que um centro de análises

específico determine o seu próprio grupo de níveis médios de AFP da 15<sup>a</sup> à 20<sup>a</sup> semana de gestação, medido na população a ser rastreada. Os valores limite geralmente utilizam múltiplos dos médios (MoM) de 2,0 ou 2,5 para o soro materno e análises ao líquido amniótico. Cada resultado das análises AFP pode depois ser expresso como um múltiplo do valor médio da população não afectada. Este valor é obtido dividindo o valor do AFP pelo valor médio para a semana gestacional que lhe corresponde. As semanas gestacionais são definidas como semanas gestacionais completas, i.e, 16 semanas, 6 dias seriam considerados a 16<sup>a</sup> 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 indicado encontram-se os valores das medianas para amostras de soro materno, obtidas com o kit de AFP no IMMULITE e IMMULITE 2000, calculadas por regressão linear logarítmica a partir de gravidez única não-afectada em 3 clínicas nos E.U.A.

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

\*Regredidos

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

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

\*Regredidos

## Limitações

**Diagnóstico:** A ocorrência de níveis elevados de AFP no soro, noutras doenças além do cancro do testículo não seminomatoso, não aconselha o uso de AFP no diagnóstico do cancro do testículo não seminomatoso.

**Rastreo:** Doseamentos de AFP não podem ser recomendados como procedimento de rastreo para detectar carcinoma na população em geral. Concentrações elevadas de AFP no soro foram observadas não só em doentes com cancro do testículo não seminomatoso mas também em doenças malignas como carcinoma hepatocelular, carcinoma de ovário, e carcinoma pulmonar e gastrointestinal. Doenças hepáticas benignas como hepatite viral aguda, hepatite crónica activa e cirrose podem apresentar concentrações elevadas de AFP no soro. Concentrações elevadas de AFP também foram observadas na gravidez, telangiectasia ataxia e tirosinemia hereditária.

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

Os anticorpos heterófilos no soro humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes no ensaio, causando interferência com os imunoensaios *in vitro*. [Ver Boscato LM,

Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34:27-33.] Amostras de doentes expostas em rotina a produtos ou soros de animais podem demonstrar este tipo de interferência, potencial causador de resultados anómalos. Estes reagentes foram formulados para minimizar o risco de interferência, contudo podem ocorrer potenciais interações entre soros (raros) e componentes do teste. Para fins de diagnóstico, os resultados obtidos neste ensaio devem ser sempre analisados em combinação com o exame clínico, história de medicação do doente e outros achados que possam correlacionar.

## Características do ensaio

Consulte Tabelas e Gráficos para dados *representativos* do desempenho do doseamento. Todos os resultados, excepto os de comparações entre os analisadores IMMULITE e IMMULITE 1000, foram obtidos no IMMULITE. 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  $\times$  1,21  $\rightarrow$  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 450 000 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 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 (9,8 31 em 67 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

"Recuperação" para dados representativos.)

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

**Bilirubina (não-conjugado):** Provoca um pequeno efeito por teste mas estatisticamente significativa. (Vêr tabela de bilirrubina.)

**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 381 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.

**Comparação de métodos – Estudos de cancro dos testículos:** O ensaio foi comparado com um ensaio legalmente comercializado (Kit C), em duas clínicas. Na primeira (na região noroeste dos Estados Unidos), um total de 264 amostras foram avaliadas, incluindo amostras de homens com **cancro do testículo não seminomatoso** e outras condições malignas e não malignas, e também amostras de algumas mulheres. Os resultados foram comparados qualitativamente, em relação a Cutoff baseadas no percentil 99% para homens saudáveis — ou seja, 5 IU/mL para IMMULITE, e 8,9 ng/mL (7,36 IU/mL) para Kit C.

Kit C	IMMULITE AFP			
	Pos	Neg	Sensibilidade Relativa (95% CI)	Especificidade Relativa (95% CI)
Positivo	74	4	94,9%	97,3%
Negativo	5	181	(87,4–98,6%)	(93,8–99,1%)

Concordância: 96,6%

Na segunda clínica (na região sul dos Estados Unidos), um total de 213 amostras foram estudadas, incluindo amostras de homens com **cancro do testículo seminomatoso** e não seminomatoso, e outras condições malignas, e também amostras de algumas mulheres.

Kit C	IMMULITE AFP			
	Pos	Neg	Sensibilidade Relativa (95% CI)	Especificidade Relativa (95% CI)
Positivo	62	3	95,4%	97,3%
Negativo	4	144	(87,1–99,0%)	(93,2–99,3%)

Concordância: 96,7%

Os 424 resultados destas duas clínicas foram comparados por análise de regressão linear:

(IML) = 0,83 (Kit C) – 0,17 IU/mL  
 $r = 0,99$   
 $n = 424$

95% Intervalo de Confiança (CI)	Desvio	Interceptar
Mais baixo	0,81	–0,65
Parte superior	0,84	0,31

**Comparação de métodos – Estudos sobre defeitos do tubo neural:** Em dois estudos clínicos efectuados separadamente nos Estados Unidos, os resultados de IMMULITE 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) = 0,83 (Kit B) + 6,51 IU/mL  
 $r = 0,97$   
 $n = 1\ 006$

95% Intervalo de Confiança (CI)	Desvio	Interceptar
Mais baixo	0,82	5,93
Parte superior	0,85	7,09

(IML) = 0,87 (Kit A) + 2,72 IU/mL  
 $r = 0,96$   
 $n = 346$

95% Intervalo de Confiança (CI)	Desvio	Interceptar
Mais baixo	0,84	1,64
Parte superior	0,89	3,79

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 173 kIU/mL\*.

(IML) = 0,78 (Kit B) + 0,17 kIU/mL  
 $r = 0,99$   
 $n = 185$

95% Intervalo de Confiança (CI)	Desvio	Interceptar
Mais baixo	0,76	-0,19
Parte superior	0,79	0,53

\* As amostras de líquido amniótico foram diluídas 1-em-101 off-line antes de serem analisadas pelo aparelho IMMULITE.

O ensaio foi comparado com o kit de AFP IMMULITE 2000 em amostras de líquido amniótico, numa amplitude de aproximadamente 3 a 20 kIU/mL\*. (Veja o gráfico "Method Comparison 1".)

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 off-line antes de serem analisadas pelo aparelho IMMULITE.

O ensaio também foi comparado com o kit de AFP IMMULITE 2000 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 = 13:

Semana gestacional	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15-20	92,3%	69,2%	69,2%
95% CI para todas as amostras	64,0%–99,8%	38,6%–90,9%	38,6%–90,9%

### Especificidade Clínica para Soro Materno:

Semana gestacional	n	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	173	96,0%	98,8%	98,8%
16	411	98,1%	99,3%	99,5%
17	372	96,5%	99,7%	100%
18	204	95,1%	99,0%	100%
19	108	94,4%	99,1%	100%
20	50	100%	100%	100%
15-20	1318	96,7%	99,3%	99,7%
95% CI para todas as amostras		95,5%–97,6%	98,7%–99,7%	99,2%–99,9%

### Sensibilidade Clínica para Líquido Amniótico, n = 10:

Semana gestacional	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15-20	90,0%	90,0%	90,0%
95% CI para todas as amostras	55,5%–99,8%	55,5%–99,8%	55,5%–99,8%

## Especificidade Clínica para Líquido Amniótico:

Semana gestacional	n	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	23	100%	100%	100%
16	39	97,4%	100%	100%
17	25	100%	100%	100%
18	34	94,1%	97,1%	100%
19	33	100%	100%	100%
20	13	100%	100%	100%
15–20	167	98,2%	99,4%	100%
95% CI para todas as amostras		94,8%–99,6%	96,7%–100%	97,8%–100%

**Comparação com o soro materno – IMMULITE 1000 vs. IMMULITE:** num total de 110 amostras de soro materno foi testada a AFP no IMMULITE/IMMULITE 1000. (Ver comparação de métodos 2 no gráfico de soro materno.)  
Por regressão linear:

$$(IML\ 1000) = 0,99 (IML) + 0,13\ IU/mL$$

$$r = 0,996$$

Médias:  
2,88 IU/mL (IML 1000)  
2,77 IU/mL (IML)

**Comparação com o fluido amniótico – IMMULITE 1000 vs. IMMULITE:** num total de 91 amostras de fluido amniótico foi testada a AFP no IMMULITE/IMMULITE 1000. (Ver comparação de métodos 3 no gráfico de fluido amniótico.)  
Por regressão linear:

$$(IML\ 1000) = 1,00 (IML) - 0,05\ kIU/mL^*$$

$$r = 0,991$$

Médias:  
11,5 kIU/mL (IML 1000)  
11,5 kIU/mL (IML)

\*As amostras de líquido amniótico foram diluídas 1-em-101 off-line antes de serem analisadas pelo aparelho IMMULITE e IMMULITE 1000.

## Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

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



2019-09-30

PILKAP – 21

cc#EU23657

## Understanding the Symbols

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

**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



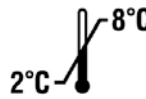
**En:** CE Mark with identification number of notified body  
**De:** CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle  
**Es:** Marca CE con número de identificación del organismo notificado  
**Fr:** Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié  
**It:** Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato  
**Pt:** Marca CE, com número de identificação do organismo notificado



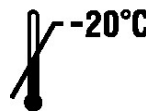
**En:** Consult instructions for use  
**De:** Bedienungshinweise beachten  
**Es:** Consulte las instrucciones de uso  
**Fr:** Consulter le mode d'emploi  
**It:** Consultare le istruzioni per l'uso  
**Pt:** Consulte as instruções de utilização

**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



**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 tibias 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**

**En:** Reagent Wedge  
**De:** Reagenzbehälter

**REAG WEDGE A**

**Es:** Vial de reactivo  
**Fr:** Cartouche à réactif

**REAG WEDGE B**

**It:** Porta Reagente  
**Pt:** Embalagem de Reagente

**REAG WEDGE D****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

<b>ADJUSTOR H</b>	<b>En:</b> Adjustor, high <b>De:</b> Kalibrator, hoch <b>Es:</b> Ajustador, alto <b>Fr:</b> Ajusteur, haut <b>It:</b> Calibratore, alto <b>Pt:</b> Ajuste, alto
<b>ADJUSTOR AB</b>	<b>En:</b> Adjustor Antibody <b>De:</b> Kalibrator Antikörper <b>Es:</b> Anticuerpo Ajustador <b>Fr:</b> Anticorps de l'Ajusteur <b>It:</b> Anticorpo del Calibratore <b>Pt:</b> Anticorpo do Ajuste
<b>DIL</b>	<b>En:</b> Sample Diluent <b>De:</b> Probenverdünnungsreagenz <b>Es:</b> Diluyente para muestras <b>Fr:</b> Diluant échantillon <b>It:</b> Diluente per Campioni <b>Pt:</b> Diluente de Amostra
<b>CONTROL</b>	<b>En:</b> Control <b>De:</b> Kontrolle <b>Es:</b> Control <b>Fr:</b> Contrôle <b>It:</b> Controllo <b>Pt:</b> Controllo
<b>CONTROL 1</b>	
<b>CONTROL 2</b>	
<b>CONTROL 3</b>	
<b>CONTROL +</b>	<b>En:</b> Positive Control <b>De:</b> Positivkontrolle <b>Es:</b> Control Positivo <b>Fr:</b> Contrôle positif <b>It:</b> Controllo positivo <b>Pt:</b> Controllo Positivo
<b>CONTROL + L</b>	<b>En:</b> Low Positive Control <b>De:</b> Schwachpositivkontrolle <b>Es:</b> Control Positivo bajo <b>Fr:</b> Contrôle positif faible <b>It:</b> Controllo Positivo Basso <b>Pt:</b> Controllo Positivo Baixo

### Symbol Definition

<b>CONTROL -</b>	<b>En:</b> Negative Control <b>De:</b> Negativkontrolle <b>Es:</b> Control Negativo <b>Fr:</b> Contrôle négatif <b>It:</b> Controllo negativo <b>Pt:</b> Controllo Negativo
<b>CONTROL AB</b>	<b>En:</b> Control Antibody <b>De:</b> Kontroll-Antikörper <b>Es:</b> Anticuerpo Control <b>Fr:</b> Anticorps du contrôle <b>It:</b> Anticorpo di Controllo <b>Pt:</b> Anticorpo do Controllo
<b>PRE A</b>	<b>En:</b> Pretreatment Solution <b>De:</b> Vorbehandlungslösung <b>Es:</b> Solución de Pretratamiento <b>Fr:</b> Solution de prétraitement <b>It:</b> Soluzione di pretrattamento <b>Pt:</b> Solução de Pré-tratamento
<b>PRE B</b>	
<b>DITHIOTHREITOL</b>	<b>En:</b> Dithiothreitol Solution <b>De:</b> Dithiothreitol-Lösung <b>Es:</b> Solución de Ditiotreitolo <b>Fr:</b> Solution de Dithiothreitol <b>It:</b> Soluzione di Ditiotreitolo <b>Pt:</b> Solução de Ditiotreitolo
<b>BORATE-KCN BUF</b>	<b>En:</b> Borate-KCN Buffer Solution <b>De:</b> Borat-KCN-Puffer <b>Es:</b> Solución Tampón Borato-KCN <b>Fr:</b> Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium <b>It:</b> Soluzione Tampone Borato-KCN <b>Pt:</b> Solução Tamponizada de Borato-KCN