



AFP

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 AFP

English

IMMULITE 2000 AFP

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

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

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

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

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

Summary and Explanation

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

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

Testicular Cancer

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

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

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

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

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

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

Fetal Open Neural Tube Defects

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

Measurement of AFP concentrations is clinically valuable in screening for open NTDs and other fetal abnormalities;³⁵ pregnancies associated with open NTDs present with elevated AFP levels. Excess AFP gains access to amniotic fluid, and to a lesser extent to the maternal serum, by

transudation across the exposed surface of the fetus or across damaged glomeruli.^{35, 37} These conditions are found in open NTDs including open spina bifida and anencephaly, omphalocele, and congenital nephrosis.^{32,38} Additional causes of elevated AFP concentrations including both maternal and fetal sources are impending spontaneous abortion, fetal distress or death, oligohydramnios, toxemia, gastroschisis, Meckel's syndrome, sacrococcygeal teratoma, Turner's syndrome and maternal hepatic and oncologic disorders.³⁵

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

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

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

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

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

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

Principle of the Procedure

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

Incubation Cycles: 2 × 30 minutes

Specimen Collection

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

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

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

Icteric or grossly contaminated samples may give erroneous results.

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

anticoagulant therapy, may require increased clotting time.

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

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

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

Volume Required

Serum: 10 µL

Amniotic fluid: 10 µL of prediluted amniotic fluid specimen

Amniotic Fluid Dilution Factor: 100

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

Storage

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

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

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.

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

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

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

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

Water: Use distilled or deionized water.

Materials Supplied

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

AFP Bead Pack (L2AP12)

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

L2KAP2: 1 pack **L2KAP6:** 3 packs

AFP Reagent Wedge (L2APA2)

With barcode. 11.5 mL of a protein buffer/nonhuman serum matrix; and 11.5 mL of alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to polyclonal rabbit anti-AFP, in buffer. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KAP2: 1 wedge **L2KAP6:** 3 wedges

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

AFP Adjustors (L2APJ3, L2APJ4)

Two vials (Low and High), 2.0 mL each, of AFP in a bovine serum matrix. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

L2KAP2: 1 set **L2KAP6:** 2 sets

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

Kit Components Supplied Separately**Multi-Diluent 2 (L2M2Z, L2M2Z4)**

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

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

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

L2M2Z: 3 labels **L2M2Z4:** 5 labels

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

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate

L2PWSM: Probe Wash

L2KPM: Probe Cleaning Kit

LRXT: Reaction Tubes (disposable)
L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes
 (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

Also Required

Distilled or deionized water; test tubes;
 controls

Assay Procedure

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

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

Recommended Adjustment Interval:
 4 weeks

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

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

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

Expected Values

AFP Values in Testicular Cancer Patients

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

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

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

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

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

Patients with nonseminomatous testicular cancer can be expected to have a distribution of AFP values both within and above the reference range for apparently healthy adult male subjects. In pure form, seminomas do not present with elevated

serum AFP levels. However, elevated AFP levels have been observed in patients diagnosed with seminomas accompanied by metastases of nonseminomatous testicular cancer.⁸

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

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

AFP Values in Maternal Serum and Amniotic Fluid

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

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

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

*Regressed

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

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

*Regressed

Limitations

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

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

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

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

Performance Data

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

Conversion Factor:

IU/mL \times 1.21 \rightarrow ng/mL

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Method Comparison – Testicular

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

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

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

Method Comparison – Neural Tube

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

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

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

(IML 2000) = 0.73 (Kit B) + 5.22 IU/mL

r = 0.97

n = 1,015

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

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

(IML 2000) = 0.79 (Kit B) + 2.27 kIU/mL

r = 0.99

n = 200

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

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

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

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

r = 0.96

n = 46

Means:

10.0 kIU/mL (IMMULITE)

10.8 kIU/mL (IMMULITE 2000)

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

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

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

(IML 2000) = 1.01 (IML) + 0.154 IU/mL

r = 0.982

n = 346

Means:

33.8 IU/mL (IMMULITE)

34.3 IU/mL (IMMULITE 2000)

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

Clinical Sensitivity for Maternal Serum, n = 9:

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

Clinical Specificity for Maternal Serum:

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

Clinical Sensitivity for Amniotic Fluid, n = 8:

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

Clinical Specificity for Amniotic Fluid:

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

References

Testicular Cancer

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

Fetal Open Neural Tube Defects

32) Brock DJH. Prenatal diagnosis – chemical methods. Br Med Bull 1976;32:16. 33) Crandall BF. Alpha-fetoprotein: a review. CRC Crit Rev Clin Lab Sci 1981;Sept:127-85. 34) Gitlin D. Normal biology of AFP. Ann NY Acad Sci 1975;259:17-28. 35) Haddow JE, et al. Fetal disorders associated with elevated MSAFP values. Foundation Blood Res 1990:1. 36) Leek AE, Chard T. Proceedings of colloquium on alpha-fetoprotein. In: Masseyeff R, editor. Paris: L'Institut National de la Sante et de la Recherche Medicale 563, (Nice) 1974. 37) Second Report of the Collaborative Study on

Alpha-Fetoprotein in Relation to Neural Tube Defects. Amniotic fluid alpha-fetoprotein measurement in antenatal diagnosis of anencephaly and open spina bifida in early pregnancy. Lancet 1979;ii:651. 38) Seppälä M. Fetal pathophysiology of human α -fetoprotein. Ann N Y Acad Sci 1975;259:59.

Technical Assistance

For technical assistance, contact your National Distributor.

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. is certified to ISO 13485:2003.

Tables and Graphs

Precision (IU/mL)

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

Dansk. ¹I samme kørsel, ²Total, ³Middelværdi, ⁴Standardafvigelse, ⁵Varianskoefficient. **Eesti.** ¹Mõõtmisseeria sisene, ²Seeriaveheline, ³Keskmine väärtused, ⁴Standardhälve, ⁵Variatsioonikoeffitsient. **Latviski.** ¹Sērijas robežās, ²Kopā, ³Vidējā vērtība, ⁴SD, ⁵Variāciju koeficients. **Lietuviškai.** ¹Vieno tyrimo metu, ²Bendrai, ³Vidurkiai, ⁴SD, ⁵CV. **Norsk.** ¹Innen serien, ²Total, ³Middel, ⁴SD, ⁵CV. **Svenska.** ¹Inom körning, ²Totalt, ³Medel, ⁴SD, ⁵CV.

Linearity (IU/mL) – Serum

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

Dansk. ¹Fortynding, ²Observeret, ³Forventet, ⁴%Obs./ Forv., ⁵Ufortyndet. **Eesti.** ¹Lahjendus, ²Täheldatud (T), ³Oodatud (O), ⁴% T/O, ⁵8 8-st. **Latviski.** ¹Atšķaidījums, ²Novērots (N), ³Gaidīts (G), ⁴% N/G, ⁵8:8. **Lietuviškai.** ¹Skiedimas, ²Nustatyta (N), ³Tikėtasi (T), ⁴% N/T, ⁵8 iš 8. **Norsk.** ¹Fortynning, ²Observeret (O), ³Forventet (E), ⁴% O/E, ⁵Ufortynnet. **Svenska.** ¹Spädning, ²Observerat (O), ³Föväntat (E), ⁴% O/E, ⁵Ospätt.

Linearity (IU/mL) – Amniotic Fluid

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

Dansk. ¹Fortynding, ²Observeret, ³Forventet, ⁴%Obs./ Forv., ⁵1:100. **Eesti.** ¹Lahjendus, ²Täheldatud (T), ³Oodatud (O), ⁴% T/O, ⁵1 100-st. **Latviski.** ¹Atšķaidījums, ²Novērots (N), ³Gaidīts (G), ⁴% N/G, ⁵1:100. **Lietuviškai.** ¹Skiedimas, ²Nustatyta (N), ³Tikėtasi (T), ⁴% N/T, ⁵1 iš 100. **Norsk.** ¹Fortynning, ²Observeret (O), ³Forventet (E), ⁴% O/E, ⁵1:100. **Svenska.** ¹Spädning, ²Observerat (O), ³Föväntat (E), ⁴% O/E, ⁵1:100.

Recovery (IU/mL) – Serum

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

Dansk. ¹Opløsning, ²Observeret, ³Forventet, ⁴%Obs./ Forv. **Eesti.** ¹Lahus, ²Täheldatud (T), ³Oodatud (O), ⁴% T/O. **Latviski.** ¹Šķīdums, ²Novērots (N), ³Gaidīts (G), ⁴% N/G. **Lietuviškai.** ¹Tirpalas, ²Nustatyta (N), ³Tikėtasi (T), ⁴% N/T. **Norsk.** ¹Løsning, ²Observert (O), ³Forventet (E), ⁴% O/E. **Svenska.** ¹Lösning, ²Observerat (O), ³Förväntat (E), ⁴% O/E.

Recovery (IU/mL) – Amniotic Fluid

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

Dansk. ¹Fostervandsprøve, lav konc., ²Fostervandsprøve, høj konc. til tilsætning, ³Observeret, ⁴Forventet, ⁵%Obs./ Forv. **Eesti.** ¹Madal amniovedeliku proov, ²Rikastades kõrget amniovedeliku proovi, ³Täheldatud (T), ⁴Oodatud (O), ⁵% T/O. **Latviski.** ¹Zema augļūdens paraugs, ²Augsta augļūdens paraugs, ³Novērots (N), ⁴Gaidīts (G), ⁵% N/G. **Lietuviškai.** ¹Zemas vaisiaus vandenų mėginys, ²Aukštas vaisiaus vandenų mėginys, ³Nustatyta (N), ⁴Tikėtasi (T), ⁵% N/T. **Norsk.** ¹Lav forstervannsprøve, ²Tilsatt høy forstervannsprøve, ³Observert (O), ⁴Forventet (E), ⁵% O/E. **Svenska.** ¹Lågt fostervattensprov, ²Tillsats högt fostervattensprov, ³Observerat (O), ⁴Förväntat (E), ⁵% O/E.

Specificity

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

ND: not detectable⁴

Dansk. ¹Stof, ²Tilsat, ³% Krydsreaktivitet, ⁴UD: Under detektionsgrænsen. **Eesti.** ¹Substants, ²Lisatud kogus, ³% Ristmõju, ⁴MM: Mittermääratav. **Latviski.** ¹Savienojums, ²Pievienotais daudzums, ³% krusteniskā

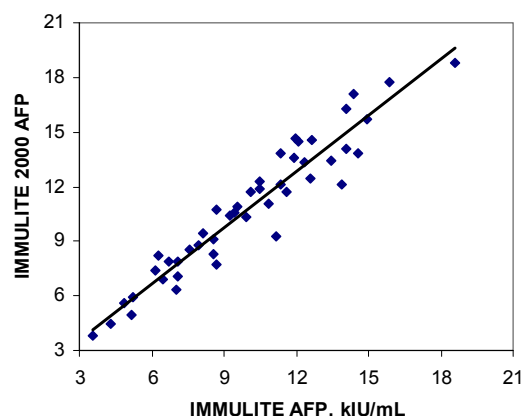
reaktivitāte, ⁴NN: nav nosakāms. **Lietuviškai.**
¹Mišinys, ²Pridėtas kiekis, ³% Kryžminis
reaktyvumas, ⁴ND: neišmatuojama. **Norsk.**
¹Substans, ²Tilsatt mengde, ³% Kryssreaktivitet,
⁴ND: Not Detectable / ikke påvisbart. **Svenska.**
¹Substans, ²Tillsatt mängd, ³% Korsreaktivitet,
⁴ND: Not Detectable/ej detekterbart.

Bilirubin

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

Dansk. ¹Ukonjugeret, ²Forventet, ³Observeret, ⁴% O/F. **Eesti.** Konjugeerimata, ²Oodatud, ³Täheldatud, ⁴% T/O. **Latviski.** ¹Nekonjugētais, ²Gaidīts, ³Novērots, ⁴% N/G. **Lietuviškai.** ¹Nekonjuguotas, ²Tikėtasi, ³Nustatyta, ⁴% N/T. **Norsk.** ¹Bilirubin (ukonjugert), ²Forventet (E), ³Observeret (O), ⁴% O/E. **Svenska.** ¹Okonjugerat, ²Förväntat, ³Observerat, ⁴% O/E.

Method Comparison – Amniotic Fluid:



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

English. AFP.

Dansk. AFP. **Eesti.** AFP. **Latviski.** AFP.

Lietuviškai. AFP. **Norsk.** AFP. **Svenska.** AFP.

Dansk

IMMULITE 2000 AFP

Anvendelsesområde: Til brug ved *in vitro* diagnostik på IMMULITE 2000-systemernes analyseinstrumenter til kvantitativ måling af alfa-fetoprotein (AFP) i forbindelse med enten: (a) serielle målinger på humant serum som hjælp ved behandling af patienter med non-seminom testikelcancer; eller (b) målinger på moderens serum og fostervand i gestationsuge 15 til og med 20 — sammen med ultralydsscanning eller amniografi — som hjælp til detektion af føtal åben neuralrørsdefekt.

Katalognumre: **L2KAP2** (200 test)

L2KAP6 (600 test)

Testkode: **AF** Farve: **Lysegrå**

AFP-koncentrationen i en given prøve bestemt med metoder fra forskellige producenter kan variere på grund af forskelle i analysemetoder og reagensspecificitet. **Ved laboratoriets afgivelse af resultater til lægen skal den anvendte metodes identitet derfor anføres. Værdier, der er opnået med forskellige AFP-analysemetoder, kan ikke sammenlignes direkte.** Inden skift af analysemetode skal laboratoriet: (a) i forbindelse med behandling af cancer — bekræfte baselineværdier for patienter, der monitoreres løbende; (b) i forbindelse med prænatal test — etablere et normalområde for den nye metode på basis af normalt serum og fostervand fra gravide kvinder med bekræftet gestationsalder.

Baggrund og forklaring

Alfa-fetoprotein (AFP) er et enkeltkædet glycoprotein med en molekylvægt på ca. 70 000 dalton. AFP har væsentlig sekvenshomologi med albumin og produceres af fosteret primært i celler i blommeseækken, gastrointestinkanalen og leveren. AFP er et vigtigt serumprotein i fosteret, men koncentrationen falder kraftigt frem mod fødslen.^{1,2,3} Tilbagevendende forhøjet AFP-koncentration i serum hos voksne

forekommer ikke kun ved graviditet, men også i forbindelse med adskillige benigne og maligne sygdomme.

Testikelcancer

Der er ikke kun observeret forhøjet AFP-niveau hos patienter med non-seminom testikelcancer, men også hos patienter med anden malignitet, såsom hepatocellulært karcinom, cancer i æggestokkene, gastrointestinal cancer og lungecancer.⁸⁻¹⁵ AFP i serum er ofte forhøjet ved benigne hepatiske tilstande, såsom akut viral hepatitis, kronisk aktiv hepatitis og cirrhose. Der er også observeret forhøjet AFP-koncentration ved graviditet, ataxia telangiectasia og medfødt tyrosinæmi.⁸⁻¹⁵

Seminomer i ren form medfører ikke forhøjet AFP-koncentration. Der er imidlertid observeret forhøjet koncentration af AFP i serum hos patienter, der er diagnosticeret med seminom testikelcancer sammen med non-seminome metastaser.^{9,16,18,19} Patienter med fremskredne seminomer og hepatisk dysfunktion har også udvist forhøjet AFP-koncentration i forbindelse med kemoterapi.²⁰ Tolkning af forhøjet AFP-koncentration hos patienter med seminomer kræver særlig overvejelse og skal støtte klinikerens valg af en passende behandling.^{8,15,21}

AFP-målingens kliniske værdi som hjælp ved behandling af patienter med non-seminom testikelcancer er veldokumenteret.^{9,16,17,18,22} AFP-måling anvendes klinisk som en hjælp til at vurdere sygdommens omfang.^{18,22-26}

Det er påvist, at serielle målinger af serum AFP giver et billede af behandlingsregimernes effekt hos patienter med non-seminome testikeltumorer.^{9,15,17,26,27} Post-kirurgiske bestemmelser af AFP er særligt værdifulde. Hvis AFP-koncentrationen ikke vender tilbage til normalværdien efter operation, er det en stærk indikation af tilstedeværelse af residueltumorer.^{9,15,28,29}

For at kunne foretage en nøjagtig tolkning af post-kirurgiske ændringer i AFP-koncentrationen skal dens metaboliske henfaldstid tages i betragtning.^{21,22,24,25}

Det bemærkes, at når AFP bruges til monitorering af behandling eller sygdomstilbagefald under kemoterapi, falder niveauet ofte hurtigt under

kemoterapien og når normalniveauet, mens tumormassen stadig er evident.^{17,21} I sådanne tilfælde anbefaler man at gennemføre den planlagte behandling.²¹

Serielle målinger af AFP har også vist sig at være af klinisk værdi efter behandling eller kirurgi, når der monitoreres for progression eller tilbagevenden af sygdom hos patienter med non-seminom testikelcancer. Der er rapporteret om, at AFP-niveauet hyppigt stiger i forbindelse med sygdomsprogression og falder ved remission.^{9,17,18} Der er ofte observeret forhøjet AFP-niveau sammen med tilbagevendende tumor, før den progressive sygdom er klinisk evident.^{9,18}

Føtal åben neuralrørsdefekt

AFP kan ikke kun detekteres i føtalt serum, men også i fostervand og i moderens serum. Der findes en koncentrationsgradient, således at når AFP-niveauet i det føtale serum er 2000 kIU/ml, er AFP-niveauet i fostervand (FVAFP) 20 kIU/ml, og AFP i moderens serum (MSAFP) er 0,02 kIU/ml. Ved en normal graviditet når AFP i føtalt serum sin maksimale koncentration ved 14 ugers gestation.³⁴ FVAFP-koncentrationen når sit maksimum ved omkring 12 uger, og MSAFP sit maksimum ved cirka 28–32 ugers gestation.³⁶ Faldet i FVAFP-koncentrationen afspejler faldet i AFP-koncentrationen i føtalt serum, der skyldes, at fosteret er vokset, og væskevolumen er øget.³⁴ Forhøjet MSAFP- og FVAFP-niveau optræder sandsynligvis oftest på grund af flerfoldsgraviditet og på grund af ukorrekt gestationsalder.

Måling af AFP-koncentrationen har klinisk værdi ved screening for åben neuralrørsdefekt og andre føtale abnormiteter.³⁵ Graviditeter med åben neuralrørsdefekt er forbundet med forhøjet AFP-niveau. Overskydende AFP går i fostervandet og, i mindre grad, i moderen serum ved transudation gennem fosterets eksponerede overflade eller gennem skadede glomeruli.^{35,37} Disse tilstande opstår ved åben neuralrørsdefekt, inklusiv åben spina bifida og anencephali, omphalocele, og medfødt nefrose.^{32,38} Blandt andre årsager til forhøjet AFP-koncentration med udspring både hos moderen og i fosteret, er truende spontan abort, føtalt distress eller død,

oligohydramnios, toksæmi, gastroschisis, Meckels syndrom, sacroccygealt teratom, Turners syndrom og hepatiske og onkologiske lidelser hos moderen.³⁵

Der er udgivet protokollære anbefalinger for screening for åben neuralrørsdefekt.^{33,35} Der kan vælges cutoffværdier for moderens serum og fostervand, som sikrer optimal tilpasning til behovet hos de testede populationer på basis af skiftende prævalens af åben neuralrørsdefekt. Cutoffværdierne anvender normalt multipler af medianen på 2,0 eller 2,5 ved test af MSAFP og FVAFP. Det optimale tidspunkt for screening af MSAFP er mellem 16. og 18. gestationsuge, selvom screeningen dog vil være effektiv både før og efter dette tidspunkt. Der kan udføres gentagen prøveopsamling og analyse ved forhøjet AFP-koncentration for at udelukke midlertidige stigninger.

Ultralydsscanning anvendes oftere for at udelukke flerfoldsgraviditet og for at bekræfte gestationsalderen. Med ultralydsscanning kan der også påvises tegn på åben neuralrørsdefekt, især anencephali, som er en stor og meget synlig læsion. Hvis en justering for gestationsalder eller flerfoldsgraviditet ikke resulterer i en AFP-koncentration inden for normalområdet, skal der foretages diagnostisk ultralydsscanning og/eller udtagning af fostervandsprøve. Der opnås størst diagnostisk styrke ved at kombinere biokemisk analyse af fostervand og diagnostisk ultralydsscanning i tilfælde af en positiv screening for MSAFP.³⁵

Et forhøjet MSAFP-resultat er ikke diagnostisk for neuralrørsdefekt og skal ikke lægges til grund for afbrydelse af graviditeten. Der er et overlap i fordelingen af AFP-koncentrationen ved graviditet med og uden åben neuralrørsdefekt. Der optræder for eksempel normalt ikke lukket neuralrørsdefekt i forbindelse med forhøjet koncentration af MSAFP eller FVAFP. Der er således behov for yderligere test for at definere den føtale status. I lyset af disse overvejelser og de forskellige årsager til forhøjet AFP-koncentration skal al klinisk information evalueres, og der skal, så vidt muligt, foretages konfirmatoriske tests, før der stilles en diagnose.

AFP kan måles ved anvendelse af forskellige immunologiske metoder afhængig af den ønskede grad af

følsomhed. Tre metoder, der er velegnede i forskningsøjemed, er radial immuno-diffusion, krydset immunoelktroforese og raketimmunoelktroforese. Enzyme-linked immunosorbent analysemetoder og radioimmunoassays af både den kompetitive og non-kompetitive type har fundet effektiv klinisk anvendelse ved målinger af både moderens serum og fostervand.

Bemærk: IMMULITE AFP Physician Brochure (Cat. #ZS1105) og Patient Brochure (Cat. #ZS1106), der forklarer brugen af AFP prænatal test som støtte til detektion af føtal åben neuralrørsdefekt, kan rekvireres fra din nationale distributør.

Analyseprincip

IMMULITE 2000 AFP er en fastfasebaseret, tosidig sekventiel immunometrisk metode med kemiluminescens.

Inkubationstid (cykler): 2 × 30 minutter

Prøveopsamling

Serum: Tag en blodprøve ved venepunktur³¹ i prøverør uden tilsætning, og udskil serum fra cellerne så hurtigt som muligt. For at sikre, at prøven er brugbar, skal den tages før amniocentese.

Det anbefales at ultracentrifugere for at oprense lipæmiske prøver.

Hæmolyserede prøver kan tyde på, at disse ikke er blevet behandlet korrekt før ankomst til laboratoriet, og derfor bør analyseresultaterne tolkes med forsigtighed.

Ikteriske eller meget kontaminerende prøver kan give fejlagtige resultater.

Centrifugering af serumprøver før fuldstændig koagulation kan resultere i, at der vil være fibrin til stede i prøven. For at undgå fejlagtige analyseresultater på grund af tilstedeværelse af fibrin skal fuldstændig koagulation være indtrådt før centrifugering af prøverne. For nogle typer prøver, især fra patienter i behandling med antikoagulantia, kan en forlænget koagulationstid være påkrævet.

Blodprøverør fra forskellige producenter kan give forskellige resultater, afhængigt af materiale og tilsætning til røret, herunder gel- eller fysisk barriere, koagulationsfremmende middel og/eller

antikoagulantia. IMMULITE 2000 AFP er ikke blevet testet med alle tilgængelige variationer af prøverør.

Fostervand: Fostervand udtages ved amniocentese i prøverør uden tilsætning. Prøven skal tages ved aseptisk transabdominal amniocentese af en erfaren obstetriker i andet trimester af graviditeten hos kvinder med bekræftet gestationsalder. Prøven centrifugeres, og herefter udtages der en del af den klare supernatant. Både supernatanten og sedimentet efterses for tegn på blod eller hæmoglobin, da kontaminering selv med spormængder af føtalt materiale vil forøge prøvens AFP-koncentration og gøre den uegnet til analyse. Det føtale materiales oprindelse bestemmes ved en test for føtalt hæmoglobin. Hvis der er indtruffet føtal kontaminering, og AFP-koncentrationen er forhøjet, skal der tages en yderligere prøve til evalueringsformål 7 til 10 dage senere. Kontaminering af fostervandet med moderens serum kan give et korrekt AFP-niveau, såfremt kontamineringsgraden ikke er tilstrækkelig til at fortynde prøven. Ordet *fostervand* anvendes herefter i denne indlægsseddel om den klare supernatant, der er udskilt fra fostervandet ved centrifugering.

Tidspunkter: Det er af afgørende betydning at kende gestationsalderen for at kunne evaluere AFP-resultatet. De anbefalede tidsrum for prøveudtagning er 16-18 uger for serum og 16-20 uger for fostervand. Der skal udtages serumprøver før amniocentese, eftersom denne procedure kan give falsk forhøjet niveau i moderens serum i 2-3 uger.

Prøvevolumen

Serum: 10 µl

Fostervand: 10 µl af forfortyndet fostervandsprøve

Fortyndingsfaktor for fostervand: 100
Alle fostervandsprøver skal fortyndes 1:101 ved brug af instrumentets Multifortyndingsvæske 2 (Multi-Diluent 2) før analyse. Vælg 100 i Dilution Factor-vinduet.

Opbevaring

Serum: 3 dage ved 2–8°C. Nedfryses ved –20°C, hvis der ikke foretages analyse inden for 3 dage.

Fostervand: Fostervandsprøver skal opbevares ved –20°C. Om nødvendigt udportioneres prøverne for at undgå gentagen nedfrysning og optøning. Lad prøven nå stuetemperatur (15–28°C) før analyse, og bland den ved *forsigtig* vending. Forsøg ikke at optø prøver ved opvarmning i vandbad. Ved eventuel forsendelse skal prøverne pakkes i tøris, hvis forsendelsestiden overstiger 72 timer, eller hvis høje temperaturer udgør et problem, f.eks. i varmt klima eller om sommeren. Hvis der skal foretages reanalysering, skal den oprindelige prøvetype anvendes igen for at sikre konsistens i resultaterne.

Advarsler og forholdsregler

Til brug ved *in vitro* diagnostik.

Reagens: Opbevares ved 2–8°C. Bortskaffes i henhold til gældende lovgivning.

Følg generelle forholdsregler, og sørg for, at alle komponenter behandles som potentielle smitekilder. Anvendt kildemateriale fra humant blod blev analyseret og viste sig at være ikke-reaktivt for syfilis, for antistoffer mod HIV 1 og 2, for hepatitis B overfladeantigen og for antistoffer mod hepatitis C.

Natriumazid < 0,1 g/dl er tilsat som konserveringsmiddel. Ved kassation af reagens efterskylles med store mængder vand for at undgå ophobning af potentielt eksplosive metalazider i bly- og kobberafløbsrør.

Substrat til kemiluminescens: Undgå kontaminering og eksponering for direkte sollys (se indlægsseddel).

Vand: Brug destilleret eller ionbyttet vand.

Medfølgende materiale

Komponenterne er dele af et sammenhængende sæt. De medfølgende stregkodeetiketter skal bruges ved analysering.

Kuglebeholder, AFP (L2AP12)

Med stregkodemærkning til identifikation. 200 kugler, coatede med monoklonale museantistoffer rettet mod AFP. Stabil ved 2–8°C indtil udløbsdato.

L2KAP2: 1 beholder

L2KAP6: 3 beholdere

Reagensbeholder, AFP (L2APA2)

Med stregkodemærkning til identifikation. 11,5 ml proteinbuffer/ikke-human serummatrix; og 11,5 ml alkalisk fosfatase (udvundet fra kalvetarm) konjugeret til polyklonale kaninantistoffer rettet mod AFP, i buffer. Stabil ved 2–8°C indtil udløbsdato.

L2KAP2: 1 beholder

L2KAP6: 3 beholdere

Før brug trækkes den øverste del af etiketten af ved perforeringen uden at beskadige stregkoden. Fjern beskyttelsesfolien fra toppen af reagensbeholderen. Tryk skydelåget ned i skinnen på reagensbeholderen.

Justeringsopløsninger, AFP (L2APJ3, L2APJ4)

To flasker à 2,0 ml (lav og høj) med AFP i bovin serum-matrix. Flaskernes indhold er stabilt ved 2–8°C i 30 dage efter åbning eller i 6 måneder (udportioneret) ved –20°C.

L2KAP2: 1 sæt **L2KAP6:** 2 sæt

Før justeringsopløsningerne køres, sættes 2 af de medfølgende stregkodeetiketter (henholdsvis "Low" og "High") på prøverør, således at stregkoderne kan læses af stregkodelæseren i instrumentet.

Materiale som bestilles separat**Multi-fortyndingsvæske 2 (L2M2Z4)**

Til fortynding (i instrumentet) af serumprøver med høj koncentration og fostervandsprøver. 1 flaske med koncentreret ikke-human protein/buffer-matrix, tilsat konserveringsmiddel (klar til brug). Flaskens indhold er stabilt ved 2–8°C i 30 dage efter åbning eller i 6 måneder (udportioneret) ved –20°C.

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

Stregkodeetiketter medfølger til brug sammen med fortyndingsvæsken. Før brug placeres en stregkodeetiket på et 16 × 100 mm prøverør, således at stregkoden kan læses af instrumentets stregkodelæser.

L2M2Z: 3 stregkodeetiketter

L2M2Z4: 5 stregkodeetiketter

Til analyse af fostervand kræves en 1:101 fortynding af prøven (fortynding i instrumentet med Multifortyndingsvæske 2 (Multi-Diluent 2)).

L2SUBM: Substrat til kemiluminescens

L2PWSM: Vaskeopløsning

L2KPM: Rengørings sæt

LRXT: Prøvekopper (engangs)

L2ZT: 250 prøverør til fortyndingsvæske (16 × 100 mm)

L2ZC: 250 låg til prøverør til fortyndingsvæske

Derudover kræves

Destilleret eller ionbyttet vand, prøverør, kontroller

Fremgangsmåde

Bemærk: For at udstyret skal fungere optimalt, er det vigtigt at gennemføre al rutinemæssig vedligeholdelse som beskrevet i brugermanualen til IMMULITE 2000-systemerne.

Se brugermanualen til IMMULITE 2000-systemerne for forberedelse, opsætning, fortynding, justering, analyse og kvalitetskontrol.

Anbefalet justeringsinterval: 4 uger

Prøver til kvalitetskontrol: Følg offentlige bestemmelser eller godkendelseskrav for kvalitetskontrollens hyppighed.

Brug kommercielt tilgængelige kontroller eller egne kontroller med mindst to AFP-niveauer (høj og lav).

Siemens Healthcare Diagnostics anbefaler, at der anvendes kommercielt tilgængelige kvalitetskontrolmaterialer på mindst 2 niveauer (lavt og højt). Et tilfredsstillende præstationsniveau opnås, når de opnåede analytværdier ligger inden for det acceptable kontrolinterval for systemet eller inden for jeres interval, som er fastsat af en passende intern kvalitetskontrolordning på laboratoriet

Forventede værdier**AFP-værdier hos patienter med testikelcancer**

Baseret på ligheden med IMMULITE AFP (se afsnittet Metodesammenligning) kan denne metode forventes at have stort set det samme referenceområde.

I et studie, der omfattede to kliniske centre, analyserede man 119 serumprøver fra tilsyneladende raske mænd (medianalder: 61; midterste 95%: 27–79 år) ved hjælp af IMMULITE AFP.

Resultaterne spændte fra 0,5 til 5,5 IU/ml med en median på 1,6 IU/ml og en 99-percentil på 5 IU/ml.

Studiet omfattede også mænd med testikelcancer, patienter med andre maligniteter (i lever, blære, nyre, bugspytkirtel, lunge, prostata og tarm); patienter med non-maligne tilstande (såsom cirrhose, hepatitis B og C, ulcerativ colitis, emfysem, polypper i tarm og endetarm); samt enkelte tilsyneladende raske kvinder. Fordelingen af IMMULITE AFP-resultaterne er opstillet nedenfor (med angivelse af det samlede antal for hver gruppe i parentes).

IU/ml:	< 5	5–15	15–100	> 100
Mænd				
Raske mænd (119)	118	1	—	—
Seminom testikelcancer (6)	6	—	—	—
Non-seminom testikelcancer (60)	14	8	15	23
Levercancer (10)	3	—	2	5
Andre maligne lidelser (40)	36	1	—	3
Cirrhose (4)	3	1	—	—
Hepatitis (24)	19	4	1	—
Andre non-maligne lidelser (6)	5	—	—	1
Kvinder				
Raske kvinder (29)	29	—	—	—
Maligne lidelser (20)	18	—	1	1
Non-maligne lidelser (16)	15	—	1	—

Ovenstående værdier skal kun betragtes som *vejledende*. Hvert laboratorium bør fastlægge sine egne referenceområder.

Patienter med non-seminom testikelcancer kan forventes at have en fordeling af AFP-værdier både inden for og over referenceområdet for tilsyneladende raske voksne mænd. Seminomer i ren form medfører ikke forhøjet AFP-niveau i serum. Der er imidlertid observeret forhøjet AFP-niveau hos patienter med diagnosticerede seminomer ledsaget af metastaser fra non-seminom testikelcancer.⁸

En signifikant stigning i AFP-niveauet hos patienter, der anses for at være fri for metastatisk tumor, kan være et tegn på udvikling af metastaser. Forhøjet niveau efter operation kan indikere en ufuldstændig fjernelse af tumoren eller tilstedeværelse af metastaser.

Forhøjet niveau af AFP i serum er forbundet med benigne levertilstande, såsom hepatitis og cirrhose. Størstedelen (95%) af patienterne med disse benigne lidelser har et AFP-niveau under 200 ng/ml (165 IU/ml).⁸⁻¹⁵

AFP-værdier i moderens serum og fostervandet

På grund af mulige forskelle i analyseringen på forskellige laboratorier anbefales det, at det specifikke testcenter bestemmer sit eget sæt af mediane AFP-værdier for gestationsuge 15–20 ved måling på den population, der skal screenes. Cutoff-værdierne anvender normalt multipler af medianen (MaM) på 2,0 eller 2,5 ved analyse af moderens serum og fostervand. Hvert AFP-analyseresultat kan derefter udtrykkes som en multipel af den upåvirkede medianværdi for populationen. Dette opnås ved at dividere AFP-værdien med medianværdien for den tilsvarende gestationsuge. En gestationsuge er defineret som en afsluttet gestationsuge, dvs. 16 uger og 6 dage er den 16. uge. Det anbefales, at den medianværdi og MaM-værdi, der bestemmes for hver gestationsuge, baseres på mindst 100 moderserumprøver og 50 fostervandsprøver fra upåvirkede enkeltgraviteter med bekræftet gestationsalder.

I nedenstående tabel angives medianerne for prøver af *moderens serum*, der er beregnet ved en vægtet log-lineær regression på data fra upåvirkede enkeltgraviditeter på tre kliniske centre i USA:

Gesta- tionsuge	Antal prøver	Medianer IU/ml*	Multipler af regressive medianer (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

*Regressive

Nedenfor angives medianerne for *fostervandsprøver*, der er beregnet ved en vægtet log-lineær regression på data fra upåvirkede enkeltgraviditeter på to kliniske centre i USA:

Gesta- tionsuge	Antal prøver	Medianer kIU/ml*	Multipler af regressive medianer (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

*Regressive

Begrænsninger

Diagnose: Forekomsten af forhøjet AFP-niveau i serum ved andre tilstande end non-seminom testikelcancer udelukker brugen af AFP-måling til diagnose af non-seminom testikelcancer.

Screening: Det kan ikke anbefales at bruge AFP-måling til screening for at detektere cancer i den generelle population. Der er ikke kun observeret forhøjet koncentration af AFP i serum hos patienter med non-seminom testikelcancer, men også ved maligne tilstande som hepatocellulært karcinom, cancer i æggestokkene, gastrointestinal cancer og lungecancer. Benigne hepatiske tilstande, såsom akut viral hepatitis, kronisk aktiv hepatitis og cirrhose, kan medføre forhøjet koncentration af AFP i serum. Der er også

observeret forhøjet AFP-koncentration ved graviditet, ataxia telangiectasia og arvelig tyrosinæmi.

Prænatal test: Gestationsalderen skal bestemmes nøjagtigt, før der kan foretages en pålidelig vurdering af et AFP-resultat ved prænatal testning. En undervurdering af gestationsalderen kan medføre en falsk positiv bestemmelse, mens en overvurdering af gestationsalderen kan give en falsk negativ tolkning. Hvis der er tvivl om gestationsalderen, skal der foretages bekræftende måling med ultralydsscanning.

Heterofile antistoffer i humant serum kan reagere med de immunglobuliner, som indgår i metodens komponenter, og derigennem forårsage interferens med *in vitro* immunoanalyser. [Se Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34:27-33.] Prøver fra patienter, som regelmæssigt eksponeres for dyr eller serumprodukter fra dyr, kan udvise denne type af interferens, der muligvis kan medføre et afvigende resultat. Reagenserne er formuleret på en sådan måde, at interferensrisikoen er minimeret. Der er dog mulighed for interaktioner mellem sjældne serumtyper og metodens komponenter. Til diagnostiske formål bør analyseresultater, der er opnået med denne metode, altid bruges sammen med andre kliniske undersøgelser, patientens anamnese og andre fund.

Præstationsdata

Se afsnittet "Tables and graphs" for *repræsentative* data for metodens præstationsevne. Resultaterne angives i IU/ml. Med mindre andet angives, er alle data genereret ud fra serumprøver fra patienter med testikelcancer.

Omregningsfaktor:

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

Kalibreringsområde: Op til 300 IU/ml (363 ng/ml) (WHO 1. IS 72/225)

Analytisk følsomhed: 0,2 IU/ml (0,24 ng/ml)

Hook-effekt ved høj dosis: Ingen effekt op til 534 000 IU/ml

Præcision: Der blev analyseret syv prøver i dobbeltbestemmelse i løbet af 20 dage, to kørsler pr. dag. I alt blev der udført 40 kørsler og 80 gentagelser. (Se tabellen "Precision".)

Linearitet: Der blev analyseret serumprøver og fostervandsprøver i forskellige fortyndinger. (Se tabellen "Linearity" for repræsentative data.)

Genfinding: Serumprøver tilsat 3 forskellige AFP-opløsninger (286, 700 og 1324 IU/ml) i forholdet 1:20 blev analyseret. Fostervandsprøver tilsat 3 forskellige fostervandsprøver med høj koncentration (10 000, 20 000 eller 36 000 IU/ml) i forholdet 1:20 blev også analyseret. (Se tabellen "Recovery" for repræsentative data.)

Specifitet: Metoden har en høj specifitet for AFP. (Se tabellen "Specificity".)

Bilirubin (ukonjugeret): På baggrund af metodens lighed med IMMULITE AFP udviser bilirubin en lille, men (ved *t*-test) statistisk signifikant effekt. (Se tabellen "Bilirubin" for IMMULITE AFP-studiet.)

Hæmolyse: Tilstedeværelse af hæmoglobin i koncentrationer op til 192 mg/dl har ingen effekt på resultater inden for metodens præcision.

Lipæmi: Tilstedeværelse af triglycerider i koncentrationer op til 3000 mg/dl har ingen effekt på resultater inden for metodens præcision.

Metodesammenligning – studier af testikelcancer: Metoden blev sammenlignet med IMMULITE AFP ved analysering af i alt 205 prøver fra mandlige patienter på forskellige kliniske stadier, før og efter operation, **med non-seminom testikelcancer**.

(Koncentrationsområde: cirka 0,3 til 280 IU/ml.) Ved lineær regression:

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

95% Konfidensinterval (KI)	Hældning	Skærings- punkt
Nedre	1,03	-0,51
Øvre	1,05	1,20

Metodesammenligning – studier af neuralrørsdefekt: I to separate kliniske studier udført i USA blev der foretaget en sammenligning af resultater fra IMMULITE 2000 AFP med to godkendte, kommercielle analysemetoder (Kit A og Kit B) ved lineær regression for prøver af **moderens serum** i området fra under detektionsgrænsen til 300 IU/ml. Ved lineær regression:

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

95% Konfidensinterval (KI)	Hældning	Skærings- punkt
Nedre	0,89	0,94
Øvre	0,93	2,68

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

95% Konfidensinterval (KI)	Hældning	Skærings- punkt
Nedre	0,72	4,66
Øvre	0,74	5,79

I et af de ovenstående studier blev resultater fra IMMULITE 2000 AFP sammenlignet med Kit B ved lineær regression for **fostervandsprøver** i området fra under detektionsgrænsen til 286 kIU/ml*.

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

95% Konfidensinterval (KI)	Hældning	Skærings- punkt
Nedre	0,77	1,78
Øvre	0,81	2,76

* Fostervandsprøverne blev automatisk fortyndet 1:101 af IMMULITE 2000-instrumentet.

Metoden blev også sammenlignet med IMMULITE AFP ved analysering af **fostervandsprøver** i området fra cirka 3 til 20 kIU/ml*. (Se figur.) Ved lineær regression:

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

Middelværdier:
 10,0 kIU/ml (IMMULITE)
 10,8 kIU/ml (IMMULITE 2000)

95% Konfidensinterval (KI)	Hældning	Skærings- punkt
Nedre	0,93	-0,50
Øvre	1,12	1,54

* Fostervandsprøverne blev automatisk fortyndet 1:101 af IMMULITE 2000-instrumentet.

Metoden blev også sammenlignet med IMMULITE AFP ved analysing af prøver af **moderens serum** i området fra cirka 10 til 120 IU/ml. Ved lineær regression:

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

Middelværdier:
 33,8 IU/ml (IMMULITE)
 34,3 IU/ml (IMMULITE 2000)

95% Konfidensinterval (KI)	Hældning	Skærings- punkt
Nedre	0,99	-0,60
Øvre	1,03	0,91

Klinisk sensitivitet for moderens serum, n = 9:

Gesta- tionsuge	% > 2,0 MaM	% > 2,5 MaM	% > 3,0 MaM
15–20	100%	77,8%	66,7%
95% KI for alle prøver	66,4%– 100%	40,0%– 97,2%	29,9%– 92,5%

Klinisk specificitet for moderens serum:

Gesta- tionsuge	<i>n</i>	% ≤ 2,0 MaM	% ≤ 2,5 MaM	% ≤ 3,0 MaM
15	276	94,2%	97,5%	98,6%
16	304	96,1%	99,0%	99,7%
17	272	97,1%	99,3%	99,6%
18	287	95,8%	98,6%	99,3%
19	152	93,4%	98,0%	99,3%
20	41	95,1%	100%	100%
15–20	1332	95,5%	98,6%	99,3%
95% KI for alle prøver		94,2%– 96,5%	97,8%– 99,1%	98,7%– 99,7%

Klinisk sensitivitet for fostervand, n = 8:

Gesta- tionsuge	% > 2,0 MaM	% >2,5 MaM	% >3,0 MaM
15–20	87,5%	87,5%	87,5%
95% KI for alle prøver	47,3% – 99,7%	47,3% – 99,7%	47,3% – 99,7%

Klinisk specificitet for fostervand:

Gesta- tionsuge	<i>n</i>	% ≤ 2,0 MaM	% ≤ 2,5 MaM	% ≤ 3,0 MaM
15	53	100%	100%	100%
16	50	98,0%	100%	100%
17	28	100%	100%	100%
18	20	100%	100%	100%
19	13	92,3%	100%	100%
20	10	100%	100%	100%
15–20	174	98,9%	100%	100%
95% KI for alle prøver		95,9%– 99,9%	97,9%– 100%	97,9%– 100%

Teknisk support

Kontakt den nationale distributør for teknisk support.

www.siemens.com/diagnostics

Kvalitetssystemet for Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. er registreret ifølge ISO 13485:2003.

Eesti

IMMULITE 2000 AFP

Kasutamisetstarve: *in vitro* diagnostikaks IMMULITE 2000 süsteemide analüsaatoritel alfa-fetoproteiini (AFP) kvantitatiivseks määramiseks kahest võimalikust kontekstist: (a) perioodilised määramised inimseerumis, aidates nii kaasa mitteseminoomitüüpi testisevähiga patsientide seirele, või (b) määramised ema seerumis ja amnionivedelikus 15.–20. rasedusnädalal — kasutatakse koos ultrasonograafia või amniograafiaga, et aidata kaasa loote avatud neuraaltoru defektide tuvastamisele.

Kataloogi number: **L2KAP2** (200 testi)
L2KAP6 (600 testi)

Testi kood: **AF** Värv: **helehall**

AFP kontsentratsioon, määratuna ühest ja samast proovimaterjalist erinevate AFP analüüsides, võib varieeruda, tulenevalt analüüsimeetodite erinevustest ja reagendi spetsiifilisusest.

Laboratooriumi poolt arstidele väljastatud AFP analüüsitulemused peavad sisaldama informatsiooni kasutatud analüüsi kohta. Eri analüüsimeetoditega saadud tulemusi ei tohi kasutada vaheldumisi. Enne määramismeetodi muutmist peab laboratoorium: (a) vähi seireks — kinnitama baasväärtused patsientidel, keda jälgitakse AFP seeriamääramisega; (b) prenataalseks testimiseks — kehtestama uueks analüüsiks normaalkväärtuste vahemiku, mis baseeruks normaalsel seerumil ja amnionivedelikel täpselt määratud rasedusajaga naistelt.

Kokkuvõte ja selgitus

Alfa-fetoproteiin (AFP) on hargnemata ahelaga glükoproteiin molekulmassiga umbes 70 000 daltonit. AFP sarnaneb tsüklilisuse homoloogia poolest oluliselt albumiiniga, ja seda sünteesitakse peamiselt loote rebukoti rakkudes, gastrointestinaaltraktis ja maksas. AFP avaldub põhilise seerumvalguna lootes, aga selle kontsentratsioon langeb kiiresti enne sündimist.^{1,2,3} Kõrgeenenud AFP kontsentratsiooni taasilmumist täiskasvanu seerumis on täheldatud mitte ainult raseduse korral, vaid ka seoses mitmete hea- ja pahaloolumuliste haigustega.

Testisevähk

Kõrgeenenud AFP tasemeid on täheldatud nii patsientidel mitteseminoomitüüpi testisevähiga kui ka teiste pahaloolumuliste haigustega, nagu hepatotsellulaarne kartsinoom, ovaariumi vähk, gastrointestinaalvähk ja kopsuvähk.⁸⁻¹⁵ Seerumi AFP on tihti kõrgeenenud healoomuliste maksahaiguste korral, nagu äge viirushepatiit, aktiivne krooniline hepatiit ja tsirroos. AFP kõrgeenenud kontsentratsioone on andnud ka rasedus,

ataksia, teleangiektasias ja pärilik türosineemia.⁸⁻¹⁵

Seminoomid puhtal kujul ei anna AFP kõrgeenenud kontsentratsioone. Siiski on seerumi AFP kõrgeenenud tasemeid täheldatud patsientidel, kellel on diagnoositud seminoomitüüpi testisevähk koos mitteseminoomitüüpi metastaasidega.^{9,16,18,19} Kemoterapia ajal on kõrgeenenud seerumi AFP kontsentratsioone andnud ka patsiendid kaugelearenenud seminoomi ja maksa talitlushäirega (hepaatilise düsfunktsiooniga).²⁰ Seminoomiga patsientide kõrgeenenud AFP kontsentratsiooni tõlgendamine nõuab erilist tähelepanu ja peaks aitama arstil valida sobivat ravi.^{8,15,21}

AFP mõõtmise kliiniline kasulikkus, aidates nii kaasa mitteseminoomitüüpi vähiga patsientide seirele, on dokumentaalselt hästi tõestatud.^{9,16,17,18,22} AFP mõõtmine on leidnud kliinilist rakendust vahendina haiguse ulatuse hindamiseks.^{18,22-26}

Seerumi AFP kordusuuringud on selgelt näidanud terapeutilise režiimi efektiivsust patsientidel, kellel on mitteseminoomitüüpi testise kasvaja.^{9,15,17,26,27} Eriti väärtuslikud on postoperatiivsed määramised. Kui AFP kontsentratsioonid ei lange normväärtuse tasemele on residuaalse kasvaja olemasolu väga tõenäoline.^{9,15,28,29} AFP kontsentratsiooni postoperatiivse muutuse õige tõlgendamine nõuab selle metaboolse lagunemiskiiruse arvestamist.^{21,22,24,25} Kasutades AFP-d teraapia jälgimiseks või haiguse naasmise avastamiseks kemoterapia ajal, peab märkima, et kemoterapia ajal langevad tasemed tihti kiiresti, jõudes normväärtuse tasemele, kuigi kasvaja mass on veel nähtav.^{17,21} Sellistel juhtudel soovitatakse plaanitud ravi lõpuleviimist.²¹

Järgnedes ravile või operatsioonile, on AFP kordusuuringud osutunud kliiniliselt kasulikuks, kui jälgitakse haiguse progresseerumist või retsidiivide teket mitteseminoomitüüpi testisevähiga patsientidel. On avastatud, et AFP tasemed tõusevad tihti haiguse progresseerumisel ja langevad haiguse remissioonil.^{9,17,18} Kõrgeenenud AFP tasemeid on tihti täheldatud koos kasvaja retsidiivide tekkega enne, kui haiguse progresseerumine on kliiniliselt nähtav.^{9,18}

Loote avatud neuraaltoru defektid

AFP on tuvastatav nii loote seerumis kui ka amnionivedelikus ja ema seerumis. Eksisteerib kontsentratsiooni gradient, näiteks juhul, kui loote seerumi AFP tase on 2000 kIU/mL, on amnionivedeliku AFP (AFAFP) tase 20 kIU/mL ja ema seerumi AFP (MSAFP) on 0,02 kIU/mL. Normaalse raseduse korral on loote seerumi AFP kontsentratsioon kõrgtasemel 14. rasedusnädalal.³⁴ AFAFP kontsentratsioon on kõige kõrgemal tasemel umbes 12. rasedusnädalal ja MSAFP umbes 28–32. rasedusnädalal.³⁶ AFAFP kontsentratsiooni langemine peegeldab AFP kontsentratsiooni langemist loote seerumis, mille põhjuseks on loote suuruse ja vedeliku mahu kasvamine.³⁴ MSAFP ja AFAFP kõrgeimad tasemed esinevad kõige sagedamini mitmikraseduse korral ja kui raseduse kestvus on valesti arvestatud.

AFP kontsentratsioonide mõõtmine on kliiniliselt väärtuslik avatud neuraaltoru defekti (NTD) ja teiste loote arenguhäirete sõeluuringutel,³⁵ sest avatud neuraaltoru defektiga (NTD) rasedused annavad kõrgeimad AFP tasemeid. Ülemäärane AFP omandab juurdepääsu amnionivedelikku ja vähemal määral ka ema seerumisse, imendudes läbi katmata fetaalse koe pinna või läbi kahjustatud glomeeruli.^{35,37} Selliseid talitlusi esineb avatud neuraaltoru defekti (NTD) korral, kaasa arvatud avatud spinaalfissuuri anentsefaalia, omfalotseele ja kaasasündinud nefroosi korral.^{32,38} AFP kontsentratsioonide kõrgeimad tasemed lisapõhjuseks võivad olla nii emast kui lootest põhjustatud ähvardav iseeneslik abort, loote distress või surm, oligohüdramnion, tokseemia, gastroskiis, Meckeli sündroom, sakrokoktsügeaalne teratoom, Turneri sündroom ja ema hepaatilised või onkoloogilised haigused.³⁵

Avatud neuraaltoru defektide sõeluuringuks on avaldatud soovituslikud protokollid.^{33,35} Võib valida piirväärtused ema seerumile ja amnionivedelikule, et optimeerida elanikkonna testimisvajadusi, mis põhinevad avatud neuraaltoru defekti (NTD) varieeruvale ülekaalul. Piirväärtused kasutavad tavaliselt mediaani suhtarvu 2,0 või 2,5 MSAFP ja AFAFP testimisel. MSAFP uuringuteks on optimaalne aeg raseduse 16. ja 18. nädala vahel, kuigi uuring on kasulik ka enne või pärast seda

perioodi. Kõrgeimad AFP kontsentratsioonide määramist ja analüüsimist peaks kordama, et eristada lühiajalisi tõuse.

Enamasti kasutatakse ultrasonograafiat, et välistada mitmikrasedusi ja kindlaks teha raseduse kestvus. Ultrasonograafia abil saab ka kindlaks teha avatud neuraaltoru defekti (NTD) sümptomeid, eriti anentsefaaliat, mis on suur, kergesti visualiseeritav kahjustus. Kui raseduse kestvuse korrigeerimise või mitmikraseduse kindlakstegemise tulemuseks ei ole AFP kontsentratsioon normväärtuse piires, siis on näidustatud diagnostiline ultrasonograafia ja/või amnionivedeliku proovi võtmine. Kõrgeima diagnostilise autoriteedi annab amnionivedeliku biokeemilise analüüsi kombineerimine diagnostilise ultrasonograafiaga positiivse ema seerumi alfa-fetoproteiini (MSAFP) testi korral.³⁵

Kõrgeimad MSAFP tulemuste põhjal ei saa diagnoosida NTD-d ja seda ei saa ka pidada raseduse katkemise põhjuseks. Avatud ja suletud neuraaltoru defektiga (NTD) raseduste korral eksisteerib AFP kontsentratsioonide jaotumiste kattumine. Näiteks suletud neuraaltoru defektid ei ole tavaliselt seotud kõrgeimad MSAFP või AFAFP kontsentratsioonidega. Seetõttu on loote seisundi kindlakstegemiseks vaja täiendavaid uuringuid. Arvestades neid asjaolusid ja AFP kontsentratsiooni kõrgeimad erinevaid põhjuseid, peab enne diagnoosi kinnitamist hindama kogu kliinilist informatsiooni ja tegema lisauuringuid, kus see on võimalik.

AFP-d saab mõõta mitmete immunoloogiliste tehnoloogiate abil, sõltuvalt soovitud tundlikkuse astmest. Teaduslikes uurimistöödes on hästi sobilikud ka mitmed immunodifusiooni meetodid, nagu näiteks *radial* immunodifusioon, *countercurrent* immuno-elektroforees ja *rocket* immuno-elektroforees. Nii ema seerumi kui ka amnionivedeliku uuringuteks on kliiniliselt edukalt kasutatud nii konkureerivat kui mittekonkureerivat ensüümiga ühendatud immunosorbent analüüse ja radioimmuunanalüüse.

Märkus: IMMULITE 2000 AFP Arsti brošüür (kataloogi nr ZS1105) ja Patsiendi brošüür (kataloogi nr ZS1106), mis selgitavad sünnieelse AFP uuringu

kasutamist avatud neuraaloru defekti (NTD) tuvastamisel, on võimalik saada helistades kohalikule müügiesindusele.

Protseduuri põhimõte

IMMULITE 2000 AFP analüüsimeetod on tahke faasi kahekohaline järjestikuline kemiluminescents immunomeetriline analüüs.

Inkubatsioonitsüklid: 2 × 30 minutit

Proovimaterjali kogumine

Seerum: võtke veri veenipunktsiooniga ³¹ tavalistesse katsutitesse ja eraldage seerum verelibledest nii kiiresti, kui võimalik. Proovid peab saama enne amniotsenteesi, et saada õige proov.

Lipeemiliste proovide selgitamiseks soovatakse kasutada ultratsentrifuugimist.

Hemolüüsunud proovimaterjalid võivad osutada proovide valele käitlemisele enne nende saabumist laborisse, seetõttu tuleks tulemusi tõlgendada äärmise ettevaatusega.

Ikteerilised või tugevalt saastunud proovid võivad anda ekslikke tulemusi.

Seerumproovide tsentrifuugimine enne hüübe täieliku moodustumist võib põhjustada fibriini teket. Et vältida ebatäpseid tulemusi fibriini olemasolu tõttu, kontrollige, et enne tsentrifuugimist oleks veri täielikult hüübinud. Teatud proovid, eriti patsientidelt, kes saavad antikoagulantravi, võivad hüübimiseks vajada pikemat aega.

Vere kogumiseks kasutatavad katsutid erinevatelt tootjatelt võivad mõjutana analüüsitulemusi, sõltuvalt valmistamisel kasutatud materjalidest ja lisanditest, mille hulka kuuluvad geel - või füüsilised barjäärid, hüübimisaktivaatorid ja/või antikoagulandid. IMMULITE 2000 AFP ei ole kõigi võimalike katsutitüüpidega.

Amnionivedelik: koguge amnionivedelik amniotsenteesil tavalistesse katsutitesse. Proovid tuleb võtta aseptilisel transabdominaalsel amniotsenteesil, mille viib läbi kogenud ämmaemand raseduse teisel trimestril naistel, kelle raseduse kestvus on kindlaks määratud. Tsentrifuugige proov, säilitades osa selgest supernatandist. Uurige nii supernatanti kui ka setet, et avastada verd

või hemoglobiini, sest isegi mikrokogus looteainet saastab proovi ja tõstab AFP mõõdetud kontsentratsiooni proovis, muutes selle analüüsiks sobimatuks. Looteaine päritolu tuleb määrata loote hemoglobiini testiga. Kui on toimunud loote saastumine ja AFP kontsentratsioon on kõrge, tuleb uueks mõõtmiseks võtta täiendav proov 7 kuni 10 päeva pärast. Amnionivedeliku saastumine ema seerumiga võib anda õigeid AFP tasemeid juhul, kui saastumine ei ole piisav proovi lahjendamiseks. Edaspidi osutab selle pakendi infolehel *amnionivedelik* puhtale supernatandile, mis on saadud amnionivedelikust tsentrifuugimise teel.

Ajastus: AFP tulemuste hindamiseks on tähtis teada raseduse kestvust. Seerumiproovide võtmiseks on soovitatav aeg 16.–18. rasedusnädal ja amnionivedeliku proovide võtmiseks 16.–20. rasedusnädal. Seerumiproove tuleb võtta enne amniotsenteesi, sest see protseduur võib põhjustada väärtalt kõrge, ema seerumi tasemeid, mis püsivad 2–3 nädalat.

Vajalik kogus

Seerumit: 10 µL

Amnionivedelikku: 10 µL eel-lahjendatud amnionivedeliku proovi

Amnionivedeliku lahjendusfaktor: 100
Kõik amnionivedeliku proovid peavad enne analüüsimist olema lahjendatud üks 101-le, kasutades analüsaatorisest Multilahjendit 2. Valige 100 *Dilution Factor* aknas.

Säilitamine

Seerum: 3 päeva temperatuuril 2–8°C.
Külmutada temperatuuril –20°C, kui analüüsi ei teostata 3 päeva jooksul.

Amnionivedelik: amnionivedeliku proove tuleb säilitada temperatuuril –20°C. Jaotage vajadusel osadeks, et vältida korduvat külmutamist ja sulatamist. Laske proovil enne analüüsimist soojeneda toatemperatuurini (15–28°C) ja segage *õrnalt* keerutades või ümber pöörates. Ärge üritage proove sulatada neid vesivannis kuumutades. Kui proove peab postiga edasi toimetama ja teolelek kestab kauem kui 72 tundi, tuleb proovid pakkida kuiva jäässe, samuti talitage kui probleemiks on kõrge temperatuur sooja kliima või suve tingimustes. Kui on

vajadus kordusanalüüsiks, peaks võtma originaalproovi, et säilitada tulemuste kokkusobivus.

Hoiatused ja ettevaatusabinõud

In vitro diagnostiliseks kasutamiseks.

Reagendid: säilitada temperatuuril 2–8°C. Utiliseerimine peab toimuma vastavalt kehtivatele seadustele.

Jälgige universaalseid ettevaatusabinõusid. Kõikidesse patsiendiproovidesse tuleb suhtuda kui potentsiaalselt infitseeritud materjalidesse. Inimverest pärinevaid ja antud testikomplektis kasutatavaid komponente on testitud süüfilise, HIV 1 ja HIV 2 antikehade, B-hepatiidi pinnaantigeeni ja C-hepatiidi antikehade suhtes ning kõik need uuringud on osutunud negatiivseteks.

Konservandina on lisatud naatriumasiidi kontsentratsiooniga vähem kui 0,1 g/dL. Reagendi utiliseerimisel tuleb seda uhta suure hulga veega, et ära hoida potentsiaalselt plahvatusohtlike metallasiidide kogunemist pliist või vasest kanalisatsioonitorustikku.

Kemiluminestsents substraat: vältige saastumist ning kokkupuudet otsese päikesevalgusega (vt. pakendi infoleht).

Vesi: kasutage destilleeritud või deioniseeritud vett.

Tarnitavad komponendid

Kõik komponendid moodustavad kokku sobiva komplekti. Karbis olevad triipkoodid on vajalikud konkreetse testkomplekti jaoks.

AFP kuulide konteiner (L2AP12)

Konteiner on varustatud triipkoodiga ja sisaldab 200 kuuli, mille pind on kaetud hiire päritolu monoklonaalse anti-AFP-ga. Stabiilne temperatuuril 2–8°C kuni säilivusaja lõpuni.

L2KAP2: 1 konteiner

L2KAP6: 3 konteinerit

AFP reagendi konteiner (L2APA2)

Konteiner on varustatud triipkoodiga ja sisaldab 11,5 mL valgu puhvrit / mitteinimpäritolu seerum maatriksit ja 11,5 mL aluselise fosfataasiga (veise soole päritolu) konjugeeritud polükloonsel küüliku päritolu anti-AFP-d puhvris. Stabiilne temperatuuril 2–8°C kuni

säilivusaja lõpuni.

L2KAP2: 1 konteiner

L2KAP6: 3 konteinerit

Enne reagendi konteineri esmakordset kasutuselevõtmist ja analüsaatorisse asetamist rebige ära konteineri kaant hoidev kaitsekile ilma reagendi konteineril olevat triipkoodi kahjustamata. Seejärel eemaldage fooliumist kate reagendi konteineri ülaosal asuvate avauste kohalt. Fikseerige reagendi konteineri kaas selleks ettenähtud soontesse ja veenduge, et kaas liigub avauste kohal vabalt.

AFP kalibraatorid (L2APJ3, L2APJ4)

Kaks viaali (madala ja kõrge kontsentratsiooniga), mõlemas 2,0 mL AFP-d veise seerumi maatriksis. Stabiilne temperatuuril 2–8°C 30 päeva jooksul pärast avamist või 6 kuud (osadeks jaotatuna) temperatuuril –20°C.

L2KAP2: 1 komplekt

L2KAP6: 2 komplekti

Enne kalibratsiooni teostamist kinnitage katsutitele vastavad triipkoodid (sisalduvad komplektis) nii, et neid oleks võimalik lugeda IMMULITE 2000 triipkoodilugejaga.

Eraldi tarnitavad komplekti juurde kuuluvad komponendid

Multilahjendi 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Ette nähtud kõrge kontsentratsiooniga seerumi proovide ja amnionivedeliku proovide lahjendamiseks analüsaatori poolt. Üks viaal sisaldab kontsentreeritud (kasutamiseks valmis) mitteinimpäritolu valku / puhver-maatriksit koos konservandiga. Stabiilne temperatuuril 2–8°C 30 päeva jooksul pärast avamist või 6 kuud (osadeks jaotatuna) temperatuuril –20°C.

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

Koos lahjendiga tuleb kasutada komplektis olevaid triipkoode. Enne kasutamist kinnitage triipkood 16 × 100 mm lahjendi tuubidele, nii et triipkoode oleks võimalik lugeda IMMULITE 2000 triipkoodilugejaga.

L2M2Z: 3 triipkoodi silti

L2M2Z4: 5 triipkoodi silti

Amnionivedeliku analüüs nõuab üks 101-le proovi lahjendamist (analüsaatorisisene lahjendus multilahjendiga 2).

L2SUBM: kemiluminescents substraat

L2PWSM: pipeti otsiku pesulahus

L2KPM: pipeti puhastuskomplekt

LRXT: reaktsioonikatsutid (ühekordseks kasutamiseks)

L2ZT: 250 katsutit proovilahjendile (16 × 100 mm)

L2ZC: 250 korki proovilahjendi katsutile

Samuti on vajalikud destilleeritud või deioniseeritud vesi, testi tuubid, kontrollmaterjal

Määramise protseduur

Optimaalse kasutamise tagamiseks on väga oluline täita kõik rutiinsed hooldusprotseduurid, nii nagu näeb ette IMMULITE 2000 süsteemide kasutusjuhend.

Tutvuge IMMULITE 2000 süsteemide kasutusjuhendiga töö ettevalmistuse, seadistamise, lahjendamise, kalibreerimise ja analüüsi teostamise ning kvaliteedikontrolli protseduuride teostamisel.

Soovitatav kalibreerimise intervall:
4 nädalat

Kvaliteedikontrolli proovid:

Kvaliteedikontrolli sageduse määramisel järgige valitsuse määruseid või akrediteerimismääruseid.

Kasutage vähemalt kahte erineva sisaldusega (madala ja kõrge kontsentratsiooniga) AFP kontrollmaterjale või seerumeid.

Siemens Healthcare Diagnostics soovitatav kasutada müügilolevaid vähemalt 2 kontsentratsiooniga (madal ja kõrge) kvaliteedikontrollmaterjale. Rahuldavaks tulemuseks loetakse seda, kui saadud analüüdi väärtused jäävad süsteemi vastuvõetava kontrollvahemiku või vastava laboratooriumi sisese kvaliteedikontrollisüsteemi sätestatud vahemiku piiresse.

Oodatavad väärtused

AFP väärtused testisevähiga patsientidel

Lähtudes suhtest IMMULITE AFP meetodiga (vt. graafikut Method Comparison), võib analüüsil eeldada põhiliselt samu referentspiire.

Uuringus, mis hõlmas kahte kliinikut, töödeldi IMMULITE AFP analüüsiga 119 eeldatavalt hea tervise juures oleva mehe seerumi proove (mediaan: 61 aastat; keskmine 95% vahemik: 27 kuni 79 aastat). Tulemused ulatusid 0,5 kuni 5,5 IU/mL-ni, keskmise väärtusega 1,6 IU/mL ja 99% vahemik 5 IU/mL.

Uuring hõlmas ka mehi testisevähiga; patsiente teiste pahaloolumuliste kasvajatega (maksa, põie, neeru, kõhunäärme, kopsu, eesnäärme ja käärsoole); patsiente mittepahaloolumuliste seisunditega (nagu tsirroos, B ja C hepatiit, haavandiline jämesoolepõletik, emfüseem, käärsoole ja pärasoole polüübid); ja vähesel arvul eeldatavalt hea tervise juures olevaid naisi. IMMULITE AFP tulemuste jagunemine on ära toodud alljärgnevas tabelis (iga rühma liikmete koguarv on sulgudes).

IU/mL:	< 5	5–15	15–100	> 100
Mehed				
Terved mehed (119)				
	118	1	—	—
Seminoomitüüpi testisevähk (6)				
	6	—	—	—
Mitteseminoomitüüpi testisevähk (60)				
	14	8	15	23
Maksavähk (10)				
	3	—	2	5
Teised pahaloolumulised haigused (40)				
	36	1	—	3
Tsirroos (4)				
	3	1	—	—
Hepatiit (24)				
	19	4	1	—
Teised mittepahaloolumulised haigused (6)				
	5	—	—	1

IU/mL:	< 5	5–15	15–100	> 100
Naised				
Terved naised (29)	29	—	—	—
Pahaloomulised haigused (20)	18	—	1	1
Mittepahaloomulised haigused (16)	15	—	1	—

Nimetatud referentsväärtustesse tuleb suhtuda kui *orienteeruvatesse juhistesse*. Iga laboratoorium peaks välja töötama omad referentsväärtused.

Mitteseminoomitüüpi testisevähiga patsientide AFP väärtused jagunevad nii eeldatavalt tervete meessoost subjektide referentsväärtuste piiridesse kui piiridest kõrgemale. Puhta vormiga seminoomid ei anna seerumi kõrgeenenud AFP tasemeid. Siiski on kõrgeenenud AFP tasemeid täheldatud patsientidel, kellel on diagnoositud seminoomi koos mitteseminoomse testisevähi metastaasidega.⁸

AFP tasemete tähelepanuväärne tõus patsientidel, kellel arvatakse metastaatilist kasvajat mitte olevat, võib see osutada metastaasi tekkimisele. Postoperatiivsed kõrgeenenud tasemed osutavad kasvaja mittetäielikule eemaldamisele või metastaaside olemasolule.

Seerumi kõrgeenenud AFP tasemed on seotud healoomulise maksa seisundiga, nagu hepatiit ja tsirroos. Enamiku (95%) nende healoomuliste haigustega patsientide AFP tasemed on madalamad kui 200 ng/mL (165 IU/mL).⁸⁻¹⁵

AFP väärtused ema seerumis ja amnionivedelikus.

Testide potentsiaalse varieerumise tõttu erinevates laboratooriumites, soovitatakse, et konkreetne testimiskeskus määraks ise oma AFP väärtuste mediaani seeria 15.–20. rasedusnädalani, mida mõõdetakse sõeluuringutes osalevate elanike hulgas. Piirväärtused kasutavad tavaliselt mediaanide suhtarvu (MoM) 2,0 või 2,5 ema seerumi ja amnionivedeliku testimiseks. Igat AFP testi tulemust saab seejärel väljendada suhtarvuna tervete

elanike mediaani väärtuse. See saadakse jagades AFP väärtust mediaanväärtusega vastaval rasedusnädalal. Rasedusnädalaks loetakse lõppenud rasedusnädalat, näiteks 16 nädalat ja 6 päeva loetakse 16. nädalaks. Soovitatakse, et iga rasedusnädala kohta määratud mediaani ja MoM väärtused põhineksid vähemalt 100-l ema seerumil ja 50-l amnionivedelikul komplikatsioonideta üksikrasedusest, mille kestvus on määratud.

Alljärgnevalt on ära toodud *ema seerumi* proovide mediaanid, mis on arvatud kaalutud log-lineaarse regressiooni andmetest, mis koguti komplikatsioonideta üksikrasedustest kolmes Ameerika Ühendriikide kliinikus.

Rasedus nädal	Proovide arv	Mediaanid IU/mL*	Regresseerunud mediaanide suhtarvud (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

*Regresseerunud

Alljärgnevalt on ära toodud amnionivedeliku proovide mediaanid, mis on arvatud kaalutud log-lineaarse regressiooni andmetest, mis koguti komplikatsioonideta üksikrasedustest kahes Ameerika Ühendriikide kliinikus.

Rasedus nädal	Proovide arv	Mediaanid kIU/mL*	Regresseerunud mediaanide suhtarvud (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

*Regresseerunud

Piirangud

Diagnoos: seerumi kõrgeenenud AFP tasemete esinemine tingimustes, mis ei ole mitteseminoomse testisevähi, välistab AFP mõõtmise kasutamise

mitteseminoomse testisevähi
diagnoosimisel.

Sõeluuring: AFP mõõtmisi ei saa soovitada sõeluuringu meetodina vähktõve avastamiseks elanike hulgas üldiselt. Seerumi kõrgeenenud AFP kontsentratsioone on täheldatud mitte ainult mitteseminoomse testisevähiga patsientidel, vaid ka pahaloomuliste seisundite korral, nagu hepatotsellulaarne kartsinoom, ovaariumi vähk, gastrointestinaal- ja kopsuvähk. Healoomulised hepatilised seisundid, nagu äge viirushepatiit, krooniline ägenenud hepatiit ja tsirroos võivad anda seerumi kõrgeenenud AFP kontsentratsioone. Kõrgeenenud AFP kontsentratsioone on mõõdetud ka raseduse, teleangiektasataksia ja päriliku türosineemia korral.

Prenataalne testimine: prenataalseks testimiseks teostatav usaldusväärne AFP hindamine nõuab raseduse kestvuse täpset määramist. Raseduse kestvuse alahindamine võib põhjustada vale positiivse hinnangu, samal ajal kui raseduse kestvuse ülehindamine võib põhjustada vale negatiivse tõlgendamise. Kui raseduse kestvus on ebatäpne, on näidustatud raseduse kestvuse kinnitamine ultrasonograafiaga.

Inimese seerumis leiduvad heterofiilsed antikehad võivad reageerida analüüsi komponentideks olevate immuunoglobuliinidega, mõjutades *in vitro* immuunanalüüsi. [Vt Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988; 34: 27-33.] Proovide analüüsimine nendelt patsientidelt, kes puutuvad pidevalt kokku loomade või loomade seerumiproduktidega, võib esineda seda tüüpi mõju ja analüüs võib anda ebatäpseid tulemusi. Kuigi reagendid on välja töötatud selliselt, et vähendada heterofiilsete antikehade mõju riski, võivad siiski harvadel juhtudel seerumi ja testikomponentide vahel ilmned koostoimed. Diagnostilistel eesmärkidel tuleb analüüsi tulemusi vaadelda alati koos kliinilise läbivaatuse, patsiendi anamneesi ja teiste leidudega.

Analüütiline iseloomustus

Andmed, mis on *tüüpilised* konkreetsele analüüsimeetodile, on toodud allpool olevates tabelites ja graafikutel. Kõik tulemused on väljendatud ühikutes IU/mL. Kui ei ole märgitud teisiti, siis on kõik tulemused saadud analüüsides seerumiproove, mis on võetud testisevähiga patsientidelt.

Konversioonifaktor:

$\text{IU/mL} \times 1,21 \rightarrow \text{ng/mL}$

Kalibreerimisvahemik: kuni 300 IU/mL (363 ng/mL) (WHO 1. IS 72/225)

Analüütiline tundlikkus: 0,2 IU/mL (0,24 ng/mL)

Kõrge doosi üleküllastusefekt: puudub kuni kontsentratsioonini 534 000 IU/mL

Hajuvus: seitset proovi mõõdeti korduvalt duplikaatides 20 päeva jooksul, kaks korda päevas, kokku 40 katsutit ja 80 replikaati. (Vt. tabelit "Precision".)

Lineaarsus: seerumi ja amnionivedeliku proove mõõdeti erinevate lahjenduste teostamise järgselt. (Vt. tabelit "Linearity".)

Efekt proovi rikastamisel: seerumi proovimaterjale rikastati alljärgnevalt: 20-le osale proovimaterjalile lisati kolmel juhul üks osa kindla kontsentratsiooniga AFP lahust (286, 700 ja 1324 IU/mL). Amnionivedeliku proovimaterjali rikastati alljärgnevalt: 20-le osale proovimaterjalile lisati kolmel juhul üks osa kõrge kontsentratsiooniga amnionivedeliku proove (10 000, 20 000 ja 36 000 IU/mL). (Vt. tabelit "Recovery".)

Spetsiifilisus: analüüs on väga spetsiifiline AFP suhtes. (Vt. tabelit "Specificity".)

Bilirubiin (mittekonjugeeritud):

põhinedes analüüsi suhtele IMMULITE AFP-ga, on bilirubiinil väike, aga (t-testiga) statistiliselt oluline mõju. (Vt. Tabelit "Bilirubin" IMMULITE AFP uuringuks.)

Hemolüüs: hemoglobiini esinemine kontsentratsioonis kuni 192 mg/dL ei avalda analüüsitulemustele mingisugust mõju analüüsi täpsusastmest lähtuvalt.

Lipeemia: triglütseriidide esinemine kontsentratsioonis kuni 3000 mg/dL ei avalda analüüsitulemustele mingisugust mõju analüüsi täpsusastmest lähtuvalt.

Meetodite võrdlus – testisevähi

uuringud: meetodit võrreldi IMMULITE AFP meetodiga, analüüsides 205 **mitteseminoomitüüpi testisevähi** proovi meespatsientidelt erinevas kliinilises staadiumis, pre- ja postoperatiivselt. (Kontsentratsioonide vahemik: orienteeruvalt 0,3–280 IU/mL.) Lineaarne regressioon:

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

95% Usaldusintervall (CI)	Kalle	Lõikepunkt
Alumine	1,03	–0,51
Ülemine	1,05	1,20

Meetodite võrdlus – neuraaltoru defekti

uuringud: kahes eraldi kliinilises uuringus, mis viidi läbi Ameerika Ühendriikides, võrreldi IMMULITE 2000 AFP tulemusi kahe seaduslikult turustatava analüüsiga (komplekt A ja komplekt B) lineaarses regressioonis **ema seerumi** proovide suhtes vahemikus mittemääratavast kuni 300 IU/mL-ni. Lineaarne regressioon:

$(\text{IML } 2000) = 0,91 (\text{komplekt A}) + 1,81 \text{ IU/mL}$
 $r = 0,98$
 $n = 346$

95% Usaldusintervall (CI)	Kalle	Lõikepunkt
Alumine	0,89	0,94
Ülemine	0,93	2,68

$(\text{IML } 2000) = 0,73 (\text{komplekt B}) + 5,22 \text{ IU/mL}$
 $r = 0,97$
 $n = 1015$

95% Usaldusintervall (CI)	Kalle	Lõikepunkt
Alumine	0,72	4,66
Ülemine	0,74	5,79

Ühes eelpool toodud uuringus võrreldi IMMULITE 2000 AFP tulemusi ka komplektiga B lineaarses regressioonis **amnionivedeliku** proovide suhtes, vahemikes mittemääratavast kuni 286 kIU/mL*.

$(\text{IML } 2000) = 0,79 (\text{komplekt B}) + 2,27 \text{ kIU/mL}$
 $r = 0,99$
 $n = 200$

95% Usalduspiirkond (CI)	Kalle	Lõikepunkt
Alumine	0,77	1,78
Ülemine	0,81	2,76

* Amnionivedeliku proove lahjendati automaatselt üks 101-le IMMULITE 2000 aparaadiga.

Analüüsi võrreldi ka IMMULITE AFP-ga **amnionivedeliku** proovidel vahemikus ligikaudu 3 kuni 20 kIU/mL*. (Vt. graafikut.) Lineaarne regressioon:

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

Keskmsed väärtused:
10,0 kIU/mL (IMMULITE)
10,8 kIU/mL (IMMULITE 2000)

95% Usaldusintervall (CI)	Kalle	Lõikepunkt
Alumine	0,93	–0,50
Ülemine	1,12	1,54

* Amnionivedeliku proove lahjendati automaatselt üks 101-le IMMULITE 2000 aparaadiga.

Analüüsi võrreldi ka IMMULITE AFP-ga **ema seerumi** proovidel vahemikus ligikaudu 10 kuni 120 IU/mL. Lineaarne regressioon:

$(\text{IML } 2000) = 1,01 (\text{IML}) + 0,154 \text{ IU/mL}$
 $r = 0,982$
 $n = 346$

Keskmsed väärtused:
33,8 IU/mL (IMMULITE)
34,3 IU/mL (IMMULITE 2000)

95% Usalduspiirkond (CI)	Kalle	Lõikepunkt
Alumine	0,99	–0,60
Ülemine	1,03	0,91

**Kliiniline tundlikkus ema seerumi suhtes,
n = 9:**

Rasedus- nädal	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15–20	100%	77,8%	66,7%
95% CI kõikide proovide suhtes	66,4%– 100%	40,0%– 97,2%	29,9%– 92,5%

Kliiniline spetsiifilisus ema seerumi suhtes:

Rasedus- nädal	n	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	276	94,2%	97,5%	98,6%
16	304	96,1%	99,0%	99,7%
17	272	97,1%	99,3%	99,6%
18	287	95,8%	98,6%	99,3%
19	152	93,4%	98,0%	99,3%
20	41	95,1%	100%	100%
15–20	1332	95,5%	98,6%	99,3%
95% CI kõikide proovide suhtes		94,2%– 96,5%	97,8%– 99,1%	98,7%– 99,7%

**Kliiniline tundlikkus amnionivedeliku suhtes,
n = 8:**

Rasedusnädal	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15–20	87,5%	87,5%	87,5%
95% CI kõikide proovide suhtes	47,3%– 99,7%	47,3%– 99,7%	47,3%– 99,7%

Kliiniline spetsiifilisus amnionivedeliku suhtes:

Rasedus- nädal	n	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	53	100%	100%	100%
16	50	98,0%	100%	100%
17	28	100%	100%	100%
18	20	100%	100%	100%
19	13	92,3%	100%	100%
20	10	100%	100%	100%
15–20	174	98,9%	100%	100%
95% CI kõikide proovide suhtes		95,9%– 99,9%	97,9%– 100%	97,9%– 100%

Klienditugi

Tehnilise abi saamiseks, võtke ühendust oma müügiesindusega.

www.siemens.com/diagnostics

Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. kvaliteedisüsteem omab sertifitseeritud ISO 13485:2003.

Latviski

IMMULITE 2000 AFP

Pielietojums: Paredzēts lietošanai *in vitro* diagnostikā ar IMMULITE 2000 sistēmu analizatoriem. Izmanto alfa fetoproteīna (AFP) kvantitatīvai noteikšanai, (a) sērijveida mērījumos cilvēku serumā kā papildtestu neseminoza testikulāra vēža pacientu aprūpē, vai (b) mērījumos mātes serumā un amnija šķidrumā 15.–20. grūtniecības nedēļā, saistībā ar USI vai amniogrāfiju — kā papildtestu augļa atvērtu nervu caurulītes defektu diagnostikā.

Kataloga numuri: **L2KAP2** (200 testi), **L2KAP6** (600 testi)

Testa kods: **AF** Krāsu kods: **Gaiši pelēks**

Testēšanas rezultātā iegūtais AFP līmenis paraugos, izmantojot dažādu ražotāju testus, var būt stipri atšķirīgs. To nosaka atšķirības testēšanas metodēs un reaģentu specifiskumā. **Rezultātos, ko laboratorija sniedz klīnicistiem, jānorāda AFP līmeņa mērījumu robežvērtības. Dažādu ražotāju testu rezultāti nav savietojami.** Uzsākot strādāt ar cita ražotāja testu, laboratorijai ir (a) vēža gadījumā — jāapstiprina references robežas, izmantojot pacientu sērijveida izmeklēšanas rezultātus; (b) prenatalai testēšanai — jānosaka references diapazons serumā un amnija šķidrumā sievietēm ar apstiprinātu grūtniecības laiku.

Testa apraksts un klīniskā nozīme

Alfa fetoproteīns (AFP) ir vienas ķēdes glikoproteīns ar molekulmasu apmēram 70 000 daltoni. AFP pēc struktūras ir līdzīgs albumīnam un to producē auglis, galvenokārt no dzeltenuma maisa šūnām, gastrointestinālajā traktā un aknās. Auglim AFP ir dominējošais seruma proteīns, bet tā koncentrācija strauji samazinās pēc piedzimšanas.^{1,2,3} Pieaugušajiem paaugstinātu AFP līmeni novēro ne tikai grūtniecības laikā, bet arī saistībā ar vairākām labdabīgām un ļaundabīgām saslimšanām.

Testikulārs audzējs

Paaugstināts AFP līmenis ir novērojams ne tikai neseminoza testikulāra audzēja gadījumā, bet arī pacientiem ar citām ļaundabīgām saslimšanām, tādām kā hepatocelulārā karcinoma, gastrointestināls audzējs un plaušu audzējs.⁸⁻¹⁵ AFP līmenis serumā bieži ir paaugstināts labdabīgu aknu patoloģiju gadījumos, tādu kā akūts vīrusu hepatīts, hronisks aktīvs hepatīts un ciroze. AFP koncentrācija paaugstinās arī grūtniecības, ataksijas, teleangiektāzijas un hereditārās tirozinoēmijas gadījumos.⁸⁻¹⁵

Seminomas, tīrā formā, nemanifestējas ar paaugstinātu AFP līmeni. Lai gan paaugstināta AFP koncentrācija serumā tiek novērota pacientiem ar diagnosticētu seminozu testikulāru audzēju kombinācijā ar neseminozām metastāzēm.^{9,16,18,19}

Ķīmioterapijas laikā, pacientiem ar progresējošu seminomu un aknu disfunkciju, novēro AFP koncentrācijas paaugstināšanos serumā.²⁰ Paaugstinātas AFP koncentrācijas interpretācija pacientiem ar seminomu prasa īpašu apsvēršanu un tam būtu jāpalīdz klīnicistam atbilstošas terapijas izvēlē.^{8,15,21}

Ir labi dokumentēta AFP mērījumu klīniskā lietderība, tos izmantojot kā papildtestu, novērojot pacientus ar neseminozu testikulāru audzēju.^{9,16,17,18,22} AFP mērījumiem ir klīnisks pielietojums, tie palīdz novērtēt slimības pakāpi.^{18,22-26}

Seruma AFP sērijveida mērījumi atspoguļo terapijas efektivitāti pacientiem ar neseminozu testikulāru audzēju.^{9,15,17,26,27} Īpaši svarīga ir postoperatīva AFP noteikšana. Ja postoperatīvi AFP koncentrācijai neizdodas atgriezties normas robežās, tas norāda uz reziduālu tumoru.^{9,15,28,29} AFP koncentrācijas postoperatīvo izmaiņu korekta interpretācija prasa uzmanību pret tā metabolisma ātrumu.^{21,22,24,25} Kad AFP lieto terapijas pārraudzībai, vai notiek recidīvs ķīmioterapijas laikā, jāievēro, ka AFP līmenis strauji krītas ķīmioterapijas laikā, sasniedz normālu līmeni, lai gan tumora masas vēl ir konstatējamās.^{17,21} Šādos gadījumos iesakāma plānotās terapijas pabeigšana.²¹

Atbilstoši terapijai vai operācijai, AFP sērijveida mērījumi pierāda klīnisko pielietojamību, monitorējot remisiju vai recidīvu slimniekiem ar neseminozu testikulāru audzēju. Ir aprakstīts, ka AFP līmenis bieži paaugstinās slimībai progresējot un krītas slimības remisijas gadījumā.^{9,17,18} Paaugstināts AFP līmenis bieži ir novērojams saistībā ar tumora recidīvu, pirms vēl slimības progresēšana ir klīniski pierādāma.^{9,18}

Atvērti fetālās nervu caurulītes defekti

AFP ir nosakāms ne tikai augļa serumā, bet arī amnija šķidrumā un mātes serumā. Koncentrācijas gradients kā tāds eksistē, kad AFP līmenis augļa serumā ir 2000 kIU/ml, AFP līmenis (AFAFP) amnija šķidrumā ir 20 kIU/ml un mātes seruma AFP (MSAFP) ir 0,02 kIU/ml. Normālas grūtniecības gadījumā augļa seruma AFP koncentrācija sasniedz maksimumu 14. gestācijas nedēļā.³⁴ Maksimālā AFAFP koncentrācija ir aptuveni 12. nedēļā un

MSAFP maksimums ir apmēram 28–32. gestācijas nedēļā.³⁶ AFAFP koncentrācijas krišanās atspoguļo augļa seruma koncentrācijas samazināšanos, kas ir augļa izmēru un šķidruma tilpuma palielināšanās rezultāts.³⁴ Paaugstinātu MSAFP un AFAFP līmeņu iespējama iemesls diezgan bieži ir daudzaugļu grūtniecība un nekorekts gestācijas vecums.

AFP koncentrācijas mērījumi ir klīniski nozīmīgi atvērtas nervu caurulītes defektu un citu augļa patoloģiju skrīningā;³⁵ ar NCD saistītās grūtniecības raksturojas ar paaugstinātu AFP līmeni. Paaugstināts AFP līmenis izraisa tā paaugstināšanos amnija šķidrumā un mazākā mērā arī mātes serumā, transudācijas ceļā caur augļa atklātajām virsmām vai bojātiem glomeruliem.^{35, 37} Tas ir novērojams atvērtu NCD gadījumos, ieskaitot *spina bifida* un anencefāliju, omfalocēli un iedzimtu nefrozi.^{32,38} Citi, gan mātes, gan augļa ģenēzes iemesli paaugstinātai AFP koncentrācijai ir draudošs spontānais aborts, augļa distress vai nāve, oligohidramnions, toksēmija, gastrošīze, Mekeļa sindroms, sakrokocigeāla teratoma, Tērnera sindroms un mātes aknu vai onkoloģiskas saslimšanas.³⁵

Atvērtas NCD skrīninga protokoli ir publiski pieejami.^{33,35} Mātes seruma un amnija šķidruma robežvērtības var izvēlēties, lai optimizētu izmeklējamās populācijas vajadzības atkarībā no atvērtu NCD variantu prevalences. MSAFP un AFAFP noteikšanai kā robežvērtības parasti tiek izmantoti MoM no 2,0 vai 2,5. MSAFP skrīninga optimālais laiks ir starp 16. un 18. grūtniecības nedēļu, lai gan skrīnings ir efektīvs arī pirms un pēc šī perioda. Paaugstinātas AFP koncentrācijas gadījumā ir jānoņem cits paraugs un jāveic atkārtota testēšana, lai izslēgtu tranzitorus iemeslus.

Lai noteiktu daudzaugļu grūtniecību un apstiprinātu gestācijas vecumu, biežāk tiek izmantota USI. USI var arī noteikt arī atvērtu NCD defektu pazīmes, daļēju anencefāliju, kas ir liels, viegli vizualizējams defekts. Ja AFP koncentrācija netiek koriģēta references diapazonā sakarā ar gestācijas vecumu vai daudzaugļu grūtniecību, ir indicēta diagnostiska USI un/vai amnija šķidruma parauga ņemšana. Pozitīva MSAFP skrīninga gadījumā lielākā diagnostiskā vērtība ir amnija šķidruma bioķīmiskai

izmeklēšanai kombinācijā ar diagnostisko USI.³⁵

Paaugstināti MSAFP rezultāti nav NCD diagnostiskais kritērijs, un tas nav uzskatāms par iemeslu grūtniecības pārtraukšanai. AFP koncentrāciju sadalījumā grūtniecību gadījumā ar un bez atvērtu NCD, novērojama daļēja pārklāšanās. Slēgti NCD, piem., parasti nav saistīti ar paaugstinātām MSAFP vai AFAFP koncentrācijām. Tātad tālāka izmeklēšana ir nepieciešama, lai noteiktu augļa stāvokli. Sakarā ar šiem apsvērumiem un daudziem paaugstinātas AFP koncentrācijas iemesliem, diagnozes noteikšanai ir jāizmanto visa klīniskā informācija un apstiprinošie testi.

AFP var noteikt ar dažādām imunoloģiskajām metodēm, atkarībā no vēlmēm attiecībā uz jutīgumu. Radiālā imūndifūzija un elektroforēzes metodes ir metodes ar kurām var sasniegt labus izmeklēšanas rezultātus. Gan konkurentā, gan nekonkurentā tipa enzīmu saistītie imūnsorbentu testi un radioimūntesti klīniski ar vienādiem panākumiem tiek lietoti mātes seruma un amnija šķidruma izmeklēšanai.

Piezīme: IMMULITE 2000 AFP Klīnicistu brošūra (Cat. #ZS1105) un Pacientu brošūra (Cat. #ZS1106), kas izskaidro AFP testēšanas lietošanu augļa atvērtā NCD noteikšanā, ir pieejama piezvanot izplatītājam.

Procedūras princips

IMMULITE 2000 AFP tests ir cietās fāzes divpakāpju sekvenciālā hemiluminiscentā imūnfermatīvā metode.

Inkubācijas cikli: 2 × 30 minūtes

Izmeklējamais materiāls

Serums: Venozās asinis savāc³¹ tukšos stobriņos un pēc iespējas ātrāk atdala serumu no šūnām. Paraugs jāiegūst pirms amniocentēzes, lai iegūtu derīgu paraugu.

Lipēmiski paraugi ir jāattīra ultracentrifugējot, pirms seruma izmeklēšanas.

Hemolizēti paraugi var norādīt uz nekorektu apiešanos ar paraugiem pirmslaboratorijas posmā, tāpēc rezultāti jāinterpretē piesardzīgi.

Ikteriski vai stipri kontaminēti paraugi var sniegt kļūdainus rezultātus.

Paraugu centrifugēšana pirms pilnīgas sarecēšanas var būt cēlonis fibrīna klātbūtnē paraugā, kas savukārt var radīt kļūdainus rezultātus. Lai no tā izvairītos, paraugus centrifugē tikai pēc pilnīgas asins parauga sarecēšanas. Atsevišķiem paraugiem var būt garāks recēšanas laiks, it īpaši savāktajiem no pacientiem, kas saņēmuši antikoagulantu terapiju.

Dažādu ražotāju paraugu stobriņi var dot dažādus rezultātus atkarībā no to materiāla un klātpievienotajām vielām, ieskaitot gelus vai fiziskās barjeras, reces veicinātājus un/vai antikoagulantus. IMMULITE 2000 AFP tests nav pārbaudīts izmantojot visu iespējamo tipu stobriņus.

Amnija šķidrums: Amnija šķidrums, amniocentēzes ceļā, savāc tukšos stobriņos. Paraugi jānoņem aseptiskas transabdominālas amniocentēzes ceļā, ko veic pieredzējis dzemdniecības speciālists grūtniecības otrā trimestra laikā, sievietēm ar noteiktu grūtniecības laiku. Paraugu centrifugē un paņem dzidro virspusējo slāni. Dzidro daļu un sedimentu inspicē meklējot asins vai hemoglobīna pazīmes, jo pat neliels kontaminācijas ceļā piejaukts augļa materiāls var paaugstināt šķietamo AFP koncentrāciju paraugā, padarot paraugu nederīgu testēšanai. Augļa materiāla izcelsme ir jānosaka izmantojot augļa hemoglobīna testu. Ja ir konstatēta kontaminācija ar augļa materiālu, pēc 7–10 dienām ir jāsavāc paraugs atkārtotai izmeklēšanai. Amnija šķidruma kontaminācija ar mātes serumu var adekvāti atspoguļot AFP līmeni, jo kontaminācijas pakāpe nav tik nozīmīga, lai atšķaidītu paraugu. Turpmāk šajā metodikā termins *amnija šķidrums* attiecas uz dzidro virspusējo slāni, kas iegūts no amnija šķidruma pēc centrifugēšanas.

Laika plānošana: Ir būtiski zināt gestācijas vecumu, lai novērtētu AFP rezultātus. Ieteicamais savākšanas laiks serumam ir 16.–18. gestācijas nedēļa, bet amnija šķidrumam 16.–20. gestācijas nedēļa. Seruma paraugi ir jāsavāc pirms amniocentēzes, jo procedūra var izraisīt viltus paaugstinātu AFP līmeni mātes serumā, kas saglabājas 2–3 nedēļas.

Nepieciešamais parauga tilpums

Serums: 10 µL

Amnija šķidrums: 10 µL predilūcijas amnija šķidruma parauga

Amnija šķidruma dilūcijas factors: 100
Visi amnija šķidruma paraugi pirms testēšanas ir automātiski jāatšķaida 1:101 izmantojot Multi diluentu 2. Izvēlēties 100 dilūcijas faktora lodziņā.

Uzglabāšana

Serums: 3 dienas 2–8°C. Sasaldē –20°C, ja nav izlietots 3 dienu laikā.

Amnija šķidrums: Amnija šķidruma paraugi ir jāuzglabā –20°C. Ja nepieciešams jasadala alikvotās, lai izvairītos no atkārtotas sasaldēšanas un atkausēšanas. Paraugu atstāj sasilt līdz istabas temperatūrai (15–28°C) pirms testēšanas, un *uzmanīgi* samaisa. Paraugu nesildīt siltā ūdenī. Ja paraugs jātransportē, tas ir jāievieto ledū, ja transportēšanas laiks pārsniedz 72 stundas vai ir augsta gaisa temperatūra, kā silta klimata joslā vai vasarā. Ja ir nepieciešama atkārtota testēšana, primārais paraugs ir jāsaglabā, lai saglabātu rezultātu konsekveni.

Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

Tikai *in vitro* diagnostikai.

Reaģenti: Uzglabāt 2–8°C. Utilizēt atbilstoši spēkā esošajiem noteikumiem.

Strādājot ar reaģentiem, ievērot vispārējos piesardzības pasākumus, rīkoties ar tiem kā ar potenciāli infekciozu materiālu. No cilvēka asinīm iegūtie izejmateriāli ir rūpīgi testēti un apstiprināti kā nereaktīvi uz sifilisa izraisītāju, antivielām pret HIV 1 un HIV 2, uz hepatīta B vīrusmas antigēnu un antivielām pret hepatītu C.

Atsevišķi komponenti kā konservantu var saturēt nātrija azīdu (mazāk nekā 0,1 g/dL). Mazgājot, skalot ar lielu ūdens daudzumu, lai novērstu potenciāli eksplozīvo metālu azīdu veidošanos svina un vara cauruļvadu sistēmās.

Hemiluminiscentais substrāts:

Izvairīties no piesārņošanas un tiešas saules gaismas iedarbības (skatīt ieliktņi).

Ūdens: Izmantot destilētu vai dejonizētu ūdeni.

Testa komplekts

Komplektā ietilpstošie komponenti ir savstarpēji saskaņoti. Svītrkodi satur informāciju par testu.

AFP lodīšu paka (L2AP12)

Ar svītrkodu. Katrā pakā 200 lodītes, kas pārklātas ar peļu monoklonālajām anti-AFP antivielām. Stabils 2–8°C līdz derīguma termiņa beigām.

L2KAP2: 1 paka **L2KAP6:** 3 pakas

AFP reaģentu konteiners (L2APA2)

Ar svītrkodu. Konteiners satur 11,5 mL proteīna/seruma bufersistēmu; un 11,5 mL ar sārmaino fosfatāzi konjugētu trušu poliklonālo anti-AFP antivielu saturošu reaģentu. Stabils 2–8°C līdz derīguma termiņa beigām.

L2KAP2: 1 konteiners

L2KAP6: 3 konteineri

Pirms lietošanas noņemt aizsargfoliju no atverēm konteintera virspusē. Pievienot slīdošo vāciņu konteineram tā, lai tas brīvi atvērtos un aizvērtos.

AFP kalibratori (L2APJ3, L2APJ4)

Divas pudelītes (Low un High), katra satur 2,0 mL atšķirīgas koncentrācijas AFP vērša seruma bāzesbuferēta šķīduma. Pēc atvēršanas 2–8°C stabili 30 dienas. Ilgstošai uzglabāšanai alikvotas sasaldē: stabils –20°C līdz 6 mēnešiem.

L2KAP2: 1 komplekts

L2KAP6: 2 komplekti

Pirms kalibrēšanas stobrus, kuros iepilda kalibratorus, marķē ar komplektā esošajām svītrkodu uzlīmēm tā, lai varētu nolasīt svītrkodu.

Testa veikšanai nepieciešamie materiāli, kas nav iekļauti komplektā

Multidiluents 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Augstas koncentrācijas seruma un amnija šķidruma paraugu automātiskai atšķaidīšanai. Viena pudelīte koncentrētas (gatavas lietošanai) proteīna bufersistēmas, ar konservantu. Stabils 2–8°C 30 dienas pēc atvēršanas vai 6 mēnešus (alikvotas) –20°C. Utilizēt saskaņā ar spēkā esošajiem noteikumiem.

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

Svītrkodi paredzēti izmantošanai ar diluentu. Pirms lietošanas, uzlieciet attiecīgo svītrkodu uz 16 × 100 mm testa caurulītes, lai iekārta var nolasīt svītrkodu.

L2M2Z: 3 uzlīmes **L2M2Z4:** 5 uzlīmes

Amnija šķidruma analīze prasa parauga atšķaidīšanu 1:101 (automātiska atšķaidīšana ar Multi diluentu 2).

L2SUBM: Hemiluminiscentais substrāts

L2PWSM: Pipetes-zondes mazgāšanas šķīdums

L2KPM: Pipetes-zondes tīrīšanas šķīdums

LRXT: Reakcijas kivetes (vienreiz lietojamās)

L2ZT: 250 paraugu diluenta testa stobriņi (16 × 100 mm)

L2ZC: 250 paraugu diluenta stobriņu vāciņi

Vēl nepieciešams

destilēts vai dejonizēts ūdens, teststobri, kontroles

Testēšanas procedūra

Lai optimāli veiktu testēšanu, svarīgi ir visas ikdienas ekspluatācijas procedūras izdarīt kā aprakstīts IMMULITE 2000 sistēmu lietotāja rokasgrāmatā.

Skatīt IMMULITE 2000 sistēmu lietotāja rokasgrāmatu, kur aprakstītas paraugu sagatavošanas, atšķaidīšanas, testu uzstādīšanas, kalibrēšanas, testēšanas un kvalitātes kontroles procedūras.

Ieteicamais piekalibrēšanas intervāls: 4 nedēļas

Kvalitātes kontroles paraugi: Kvalitātes kontroles biežumam ievērojiet valsts noteikumus vai akreditācijas prasības.

Izmantot vismaz divu līmeņu (low un high) AFP kontroles vai seruma pulus.

Siemens Healthcare Diagnostics iesaka izmantot tirgū pieejamus kvalitātes kontroles materiālus ar vismaz 2 līmeņiem (zemu un augstu). Pietiekams veikspējas līmenis ir sasniegts, kad iegūtās analīta vērtības iekļaujas sistēmas Pieļaujamajā Kontroles Diapazonā, vai noteiktajā diapazonā, ko nosaka attiecīga laboratorijas iekšējās kvalitātes kontroles shēma.

Sagaidāmās testa rezultātu vērtības

AFP vērtības pacientiem ar testikulāru audzēju

Pamatojoties uz testa saistību ar IMMULITE AFP testu (skatīt Metožu salīdzinājumu), testam ir sagaidāmas esenciāli tās pašas references robežas.

Pētījumā piedalījās divas klīnikas, 119 seruma paraugi, kas savākti no praktiski veselīgiem vīriešiem (vidējais vecums: 61, centrālais 95% diapazons: 27–79 gadi), tika izmeklēti izmantojot IMMULITE AFP testu. Rezultāti bija robežās 0,5 līdz 5,5 IU/mL, ar mediānu 1,6 IU/mL un 99. percentīli 5 IU/mL.

Pētījumā tika iekļauti arī vīrieši ar testikulāru vēzi; pacienti ar citām malignām slimībām (aknu, urīnpūšļa, nieru, pankreasa, plaušu, prostatas un resnās zarnas); pacienti ar neļaudabīgiem stāvokļiem (tādiem kā ciroze, hepatīts B un C, ulcerozs kolīts, emfizēma, resnās un taisnās zarnas polipi); un dažas sievietes labā vispārējā veselības stāvoklī. IMMULITE AFP rezultātu sadalījums ir atspoguļots zemāk esošajā tabulā (indivīdu skaits katrā grupā ir norādīts iekavās).

IU/mL:	< 5	5–15	15–100	> 100
Vīrieši				
Veseli vīrieši (119)	118	1	—	—
Vīrieši ar seminomu (6)	6	—	—	—
Vīrieši ar ne seminomu (60)	14	8	15	23
Aknu audzējs (10)	3	—	2	5
Citas malignitātes (40)	36	1	—	3
Ciroze (4)	3	1	—	—
Hepatīts (24)	19	4	1	—
Citas neļaudabīgas slimības (6)	5	—	—	1

IU/mL: < 5 5–15 15–100 > 100

Sievietes

Veselas sievietes (29)	29	—	—	—
Ļaundabīgas saslimšanas (20)	18	—	1	1
Neļaudabīgas saslimšanas (16)	15	—	1	—

Dotās vērtības uzskatāmas par vispārīgiem ieteikumiem. Katrā konkrētā laboratorijā jāievieš savas references robežas.

Pacientiem ar ne seminomu var gaidīt AFP vērtību sadalījumu, gan references diapazonā, gan virs vispārēji veselu vīriešu references diapazona. Tīrā formā seminomas nemanifestējas ar paaugstinātu AFP līmeni serumā. Tomēr paaugstinātu AFP līmeni var novērot pacientiem, kam diagnosticēta seminoma, kura komplikējusies ar ne seminoma testikulāra vēža metastāzēm.⁸

Ievērojams AFP līmeņa pieaugums pacientiem bez metastāzēm var norādīt uz diseminācijas procesu. Paaugstināts līmenis pēc ķirurģiskas operācijas var norādīt uz reziduālu tumoru vai metastāzēm.

Paaugstināts AFP līmenis serumā ir saistāms ar tādiem neļaudabīgiem stāvokļiem kā hepatīts un ciroze. Lielākajai daļai (95%) pacientu ar šiem neļaudabīgajiem stāvokļiem AFP līmenis ir zemāks par 200 ng/mL (165 IU/mL).⁸⁻¹⁵

AFP vērtības mātes serumā un amnija šķidrums

Sakarā ar potenciālām testēšanas variācijām dažādās laboratorijās, ir ieteicams katrā konkrētā laboratorijā ir jānosaka savas AFP vērtību mediānas 15.–20. gestācijas nedēļai, kas iegūta attiecīgajā populācijā. Robežvērtībās parasti tiek izmantots MoM no 2,0 vai 2,5 mātes seruma un amnija šķidruma tetēšanai. Katru AFP testa rezultātu tad var izteikt kā reizinājumu ar normālas populācijas mediānas vērtību. Tas ir novērojams AFP vērtību dalot ar mediānas vērtību, lai iegūtu atbilstību gestācijas vecumam. Gestācijas vecums

nozīmē pilnas grūtniecības nedēļas; piem., 16 nedēļas; 15 nedēļas un 6 dienas tiek apzīmētas kā 15 gestācijas nedēļas. Tas ir ieteicams tāpēc, ka mediānas un MoM vērtības tika noteiktas pamatojoties uz vismaz 100 mātes serumu un 50 amnija šķidruma paraugu izmeklēšanu, no normālām viena augļa grūtniecībām ar noteiktu gestācijas vecumu.

Zemāk dotajā tabulā ir *mātes seruma* paraugu mediānas, aprēķinot ar svērto lineāro regresiju no datiem, kas savākti no normālām viena augļa grūtniecībām:

Gestācijas nedēļa	Paraugu skaits	Mediānas IU/mL*	Reizinājumi ar regresijas mediānām (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

*Regresija

Zemāk dotajā tabulā ir *amnija šķidruma* paraugu, aprēķinot ar svērto lineāro regresiju no datiem, kas savākti no normālām, viena augļa grūtniecībām:

Gestācijas nedēļa	Paraugu skaits	Mediānas kIU/mL*	Reizinājumi ar regresijas mediānām (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

*Regresija

Ierobežojumi

Diagnostika: Paaugstināta AFP līmeņa gadījumi, nesaistīti ar neseminozu testikulāru audzēju, neļauj izmantot AFP mērījumus neseminoza testikulāra audzēja diagnostikā.

Skrīnings: AFP mērījumus neiesaka kā skrīninga metodi audzēju konstatēšanai kopējā populācijā. Paaugstinātas AFP koncentrācijas serumā ir novērojamas ne tikai pacientiem ar neseminozu testikulāru vēzi, bet arī tādu ļaundabīgu saslimšanu gadījumos kā hepatocelulāra karcinoma, olnīcu vēzis un gastrointestināls, un

plaušu vēzis. Arī labdabīgas aknu patoloģijas, tādas kā akūts vīrusu hepatīts, hronisks aktīvs hepatīts un ciroze var izraisīt AFP koncentrācijas pieaugumu serumā. Paaugstinātu AFP koncentrāciju novēro arī grūtniecības laikā, ataktiskās teleangiektāzijas un hereditārās tirozinēmijas gadījumā.

Prenatālā testēšana: Pārliedzinoša AFP līmeņa novērtēšana ir iespējama tikai precīzi zinot gestācijas vecumu. Zemāk noteikts gestācijas vecums noved pie viltus pozitīvas diagnostikas, bet augstāk novērtēts gestācijas vecums var būt par iemeslu viltus negatīvai interpretācijai. Ja gestācijas vecums nav precīzi noteikts, tas ir jāapstiprina ar USI izmeklēšanu.

Cilvēka seruma heterofīlās antivielas var reaģēt ar testa komponentos iekļautajiem imunoglobulīniem, traucējot imunoloģisko reakciju norisi *in vitro*. [See Boscatto LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34:27-33.] Pacientu paraugi, kas bijuši pakļauti dzīvnieku produktu vai dzīvnieku seruma produktu iedarbībai, demonstrē šīs mijiedarbības veidu radot viltus rezultātus. Šiem reaģentiem ir jānodrošina minimāls interferences risks, tomēr ir iespējama mijiedarbība starp tīru serumu un testa komponentiem. Diagnostiskiem nolūkiem testa rezultāti jāizmanto saistībā ar citu testu rezultātiem, pacienta klīnisko anamnēzi un citu attiecīgu informāciju.

Veiktspējas dati

Zemāk dotajās tabulās un grafikos apkopoti testa veiktspējas dati. Rezultāti ir izteikti IU/mL. Ja nav īpaši atzīmēts, visi rezultāti iegūti testējot seruma paraugus, kas savākti stobros bez gela barjeras un recēšanas veicinātāju piedevām.

Konversācijas koeficients:

$\text{IU/mL} \times 1,21 \rightarrow \text{ng/mL}$

Kalibrācijas diapazons: Līdz 300 IU/mL (363 ng/mL) (WHO 1st IS 72/225)

Anaīlītiskais jutīgums: 0,2 IU/mL (0,24 ng/mL)

“Augstas devas aizķeršanās” efekts: nenovēro līdz 534 000 IU/mL

Precizitāte: Paraugi tika testēti dubultatkārtojumā 20 dienu laikā, divas sērijas dienā, pavisam kopā 40 sērijas un 80 atkārtojumi. (Skatīt tabulu "Precision".)

Linearitāte: Seruma un augļūdens paraugi tika testēti dažādos atšķaidījumos. (Skatīt tabulu "Linearity".)

Atkārtojamība: Seruma paraugi, apzīmēti 1–20, tika izmeklēti trīs dažādos AFP atšķaidījumos (286, 700 un 1324 IU/mL). Amnija šķidruma paraugi, apzīmēti 1–20, arī tika izmeklēti trīs dažādos AFP atšķaidījumos (10 000, 20 000 un 36 000 IU/mL). (Skatīt tabulu "Recovery".)

Specifiskums: Testā izmantotās antivielas ir augsti specifiskas attiecībā uz AFP. (Skatīt tabulu "Specificity".)

Bilirubīns (nekonjugētais): Pamatojoties uz testa saistību ar IMMULITE AFP testu, bilirubīnam ir neliels (ar t-testu), bet statistiski nozīmīgs efekts. (Skatīt tabulu "Bilirubin" ar IMMULITE AFP pētījuma rezultātiem.)

Hemolīze: Hemoglobīns koncentrācijā līdz 192 mg/dL testa rezultātus, ieskaitot precizitāti, neietekmē.

Lipēmija: Triglicerīdi koncentrācijā līdz 3000 mg/dL testa rezultātus, ieskaitot precizitāti, neietekmē.

Metožu salīdzinājums – testikulāra audzēja pētījums: Tests tika salīdzināts ar IMMULITE AFP, izmantojot 205 paraugus no pacientiem ar **neseminozu testikulāru audzēju** dažādās klīniskajās stadijās, pre- un postoperatīvi. (Koncentrāciju diapazons: aptuveni 0,3–280 IU/mL.) Lineārās regresijas vienādojums:

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

95% drošuma intervāls (CI)	Slīpums	Nobīde
Zemākais	1,03	-0,51
Augstākais	1,05	1,20

Nrvu caurulītes defekta pētījums: Divos dažādos klīniskos pētījumos, IMMULITE 2000 rezultāti tika salīdzināti ar diviem ASV legalizētiem testiem (komplekts A un komplekts B), veicot **mātes seruma** paraugu izmeklēšanu,

koncentrāciju diapazonā no nedetektējama līdz 300 IU/mL. Lineārās regresijas vienādojums:

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

95% drošuma intervāls (CI)	Slīpums	Nobīde
Zemākais	0,89	0,94
Augstākais	0,93	2,68

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

95% drošuma intervāls (CI)	Slīpums	Nobīde
Zemākais	0,72	4,66
Augstākais	0,74	5,79

Vienā no augstāk minētajiem pētījumiem, IMMULITE 2000 AFP rezultāti tika salīdzināti arī ar komplektu B izmantojot lineārās regresijas vienādojumu **amnija šķidruma** paraugiem, koncentrāciju diapazonā no nedetektējama līdz 286 kIU/mL*.

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

95% drošuma intervāls (CI)	Slīpums	Nobīde
Zemākais	0,77	1,78
Augstākais	0,81	2,76

* IMMULITE 2000 instruments automātiski atšķaida amnija šķidruma paraugus 1 : 101.

Tests tika salīdzināts arī ar IMMULITE AFP testu, izmantojot **amnija šķidruma** paraugus, koncentrāciju diapazonā no aptuveni 3 līdz 20 kIU/mL*. (Skatīt grafiku.) Lineārās regresijas vienādojums:

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

Vidējās vērtības:
10,0 kIU/mL (IMMULITE)
10,8 kIU/mL (IMMULITE 2000)

95% drošuma intervāls (CI)	Slīpums	Nobīde
Zemākais	0,93	-0,50
Augstākais	1,12	1,54

* IMMULITE 2000 instruments automātiski atšķaida amnija šķidruma paraugus 1 : 101.

Tests tika salīdzināts arī ar IMMULITE AFP testu, izmantojot **mātes seruma** paraugus, koncentrāciju diapazonā no aptuveni 10 līdz 120 IU/mL. Lineārās regresijas vienādojums:

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

Vidējās vērtības:
 33,8 IU/mL (IMMULITE)
 34,3 IU/mL (IMMULITE 2000)

95% drošuma intervāls (CI)	Slīpums	Nobīde
Zemākais	0,99	-0,60
Augstākais	1,03	0,91

Mātes seruma klīniskais jutīgums, n = 13:

Gestācijas nedēļa	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15–20	100%	77,8%	66,7%
95% CI visiem paraugiem	66,4%–100%	40,0%–97,2%	29,9%–92,5%

Mātes seruma klīniskais specifiskums:

Gestācijas nedēļa	n	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	276	94,2%	97,5%	98,6%
16	304	96,1%	99,0%	99,7%
17	272	97,1%	99,3%	99,6%
18	287	95,8%	98,6%	99,3%
19	152	93,4%	98,0%	99,3%
20	41	95,1%	100%	100%
15–20	1332	95,5%	98,6%	99,3%
95% CI visiem paraugiem		94,2%–96,5%	97,8%–99,1%	98,7%–99,7%

Amnija šķidruma klīniskais jutīgums, n = 8:

Gestācijas nedēļa	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15–20	87,5%	87,5%	87,5%
95% CI visiem paraugiem	47,3%–99,7%	47,3%–99,7%	47,3%–99,7%

Amnija šķidruma klīniskais specifiskums:

Gestācijas nedēļa	n	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	53	100%	100%	100%
16	50	98,0%	100%	100%
17	28	100%	100%	100%
18	20	100%	100%	100%
19	13	92,3%	100%	100%
20	10	100%	100%	100%
15–20	174	98,9%	100%	100%
95% CI visiem paraugiem		95,9%–99,9%	97,9%–100%	97,9%–100%

Tehniskais atbalsts

Tehnisku jautājumu risināšanai kontaktēties ar vietējo izplatītāju.

www.siemens.com/diagnostics

Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. kvalitātes sistēmai ir ISO 13485:2003 sertifikāts.

Lietuviškai

IMMULITE 2000 AFP

Paskirtis: diagnostinām naudojumai *in vitro* su IMMULITE 2000 Sistēmų analizatoriais — kiekybiniam alfa-fetoproteino (AFP) matavimui vienu iš dviejų atvejų: (a) serijiniai matavimai žmogaus serume, kaip pagalbine priemonė atliekant neseminominiu sėklidės vėžiu sergančių pacientų gydymo stebėjimą; arba (b) matuojant motinos serume ir vaisiaus vandenyse 15–20-tą nėštumo savaitę — taikant kartu su ultrasonografija arba amniografija — kaip

pagalbine priemone vaisiaus nervinio vamzdelio defektų (NTD) nustatymui.

Katalogo numeriai: **L2KAP2** (200 tyrimų), **L2KAP6** (600 tyrimų)

Tyrimo kodas: **AF** Spalva: **šviesiai pilka**

AFP koncentracija tam tikrame mėginyje, išmatuota skirtingų gamintojų tyrimais, gali būti nevienoda dėl tyrimo metodų ir reagentų specifiškumo skirtumų. **Laboratorijos perduotuose gydytojui rezultatuose turi būti nurodytas (identifikuotas) naudotas tyrimas. Skirtingais AFP tyrimais gauti duomenys negali būti naudojami pakaitomis.** Keisdama tyrimus laboratorija privalo: (a) vėžio gydymo atveju — patvirtinti reguliariai tikrinamų pacientų bazinės reikšmės; (b) nėštumo tyrimų atveju — remiantis sveikų nėščių moterų, patvirtinus nėštumo laiką, serumo ir vaisiaus vandenų rodikliais nustatyti naujo tyrimo normos ribas.

Santrauka ir paaiškinimai

Alfa-feto proteinas yra iš vienos grandinės sudarytas glikoproteinas, kurio molekulinė masė apytiksliai 70 000 daltonų. Nemaža AFP grandinės dalis yra homologiška albuminui. Jis gaminamas embrione, visų pirma, trynio maišo ląstelėse, virškinimo trakte ir kepenyse. Besivystančio embriono serume AFP sudaro didžiausią baltymų dalį, tačiau jo koncentracija gimimui artėjant greitai mažėja.^{1,2,3} Padidėjusi AFP koncentracija suaugusiųjų organizme buvo pastebėta ne tik nėštumo metu, bet ir sąryšyje su keliomis piktybinėmis ir nepiktybinėmis ligomis.

Sėklidės vėžys

Padidėjusi AFP koncentracija nustatoma ne tik neseminominiu sėklidės vėžiu sergančių pacientų mėginiuose, tačiau ir kitais atvejais — sergant tokiais piktybinėmis ligomis kaip hepatoceliuline karcinoma, kiaušidžių vėžiu, virškinamojo trakto vėžiu bei plaučių vėžiu.⁸⁻¹⁵ AFP kiekio serume reikšmės dažnai būna paaukštėjusios gerybinių kepenų ligų, tokių kaip ūmaus virusinio hepatito, lėtinio aktyvaus hepatito ir cirozės, atveju. Nėštumas, *ataxia telangiectasia* bei įgimta tirozinemija taip pat neretai pasižymi padidėjusia AFP koncentracija.⁸⁻¹⁵

Seminomos savo tikru pavidalu nėra susijusios su padidėjusia AFP koncentracija, tačiau ji nustatoma serume pacientų, kuriems diagnozuotas seminominis sėklidės vėžys, lydimas neseminominių metastazių.^{9,16,18,19} Gydant chemoterapija pacientų su išsivysčiusia seminoma ir kepenų disfunkcija organizme AFP koncentracija taip pat būna padidėjusi.²⁰ Aukštą AFP lygį seminoma sergančių individų organizme reikia interpretuoti ypač įdėmiai, nes jis gali padėti gydytojui parinkti tinkamą terapijos būdą.^{8,15,21}

AFP lygio matavimo kaip priemonės neseminominiu sėklidės vėžiu sergančių pacientų tikrinimui klinikinė nauda yra išsamiai aprašyta.^{9,16,17,18,22} AFP tyrimas rado klinikinį pritaikymą kaip priemonę įvertinant ligos laipsnį.^{18,22-26}

Buvo įrodyta, kad serijiniai serume esančio AFP matavimai atspindi neseminominiu sėklidės auglio sergančių pacientų gydymo režimo efektyvumą.^{9,15,17,26,27} Ypač vertingas po chirurginės operacijos atliekamas AFP lygio tyrimas. Jei po operacijos AFP koncentracija nenukrinta iki normos ribų, labai tikėtina liekamojo auglio galimybė.^{9,15,28,29} Siekiant kuo tiksliau interpretuoti pooperacinį AFP lygį, būtina reikia atsižvelgti į jo metabolinį irimo laipsnį.^{21,22,24,25} AFP tyrimą naudojant gydymo eigos arba ligos liekamųjų reiškinių chemoterapijos metu stebėjimui, reikia atkreipti dėmesį į tai, kad atliekant chemoterapiją neretai alfa-fetoproteino lygis greitai pasiekia normos ribas, kai organizme akivaizdžiai dar yra auglio audinių.^{17,21} Tokiais atvejais rekomenduojama pabaigti visą suplanuotą terapijos kursą.²¹

Po terapijos ar operacijos taikomi serijiniai AFP matavimai taip pat įrodė savo klinikinę vertę stebint pacientų, sergančių neseminominiu sėklidės vėžiu, ligos vystymąsi arba liekamuosius procesus. Šaltiniuose nurodoma, kad AFP lygis dažniausiai kyla ligai progresuojant ir leidžiasi vykstant ligos remisijai.^{9,17,18} Nustatyta, kad padidėjusi AFP koncentracija neretai yra susijusi su auglio grįžtamaisiais procesais dar iki tol, kai progresuojanti liga pastebima kliniškai.^{9,18}

Atviro vaisiaus nervinio vamzdelio defektai (NVD; neural tube defect, NTD)

AFP aptinkamas ne tik embriono serume, tačiau ir vaisiaus vandenyse bei motinos serume. Šiose terpėse AFP koncentracija pasiskirsčiusi pagal tokį gradientą: embriono serume AFP siekia 2000 kIU/ml, vaisiaus vandenyse (VVAFP) – 20 kIU/ml, o motinos serume (MSAFP) – 0,02 kIU/ml. Normalaus nėštumo atveju embriono AFP koncentracija serume maksimumą pasiekia keturioliką savaitę.³⁴ VVAFP lygis viršūnę pasiekia maždaug dvyliką nėštumo savaitę, o MSAFP – apytiksliai 28–32 savaitę.³⁶ VVAFP koncentracijos kritimas rodo AFP koncentracijos sumažėjimą ir embriono serume, kuriuos nulemia embriono bei vandenų tūrio padidėjimas.³⁴ MSAFP ir VVAFP lygis dažniausiai gali būti padidėjęs dėl daugybinio nėštumo arba dėl neteisingai nustatytos nėštumo trukmės.

AFP koncentracijos matavimas yra kliniškai vertingas tiriant atviro NVD ir kitas vaisiaus anomalijas³⁵; su atviro NVD susijusiems nėštumo atvejams būdingas padidėjęs AFP lygis. AFP perteklius patenka į vaisiaus vandenį ir, mažesniu laipsniu, į motinos serumą, prasiskverbdamas per pažeistą embriono paviršių arba pakenktus glomerulus.^{35, 37} Ši situacija būdinga atviro NVD, įskaitant atvirą spina bifidą, anencefaliją, omfalocelę ir įgimtą nefrozę.^{32, 38} Kitos aukštą AFP koncentraciją galinčios nulemti priežastys, kalbant ir apie motinos ir apie vaiko šaltinius, yra savaiminis persileidimas, vaisiaus nepakankamumas arba mirtis, oligohidramnionas, toksemija, gastroschizė, Meckel'io sindromas, sakrokocigealinė teratoma, Turner'io sindromas ir motinos kepenų ar onkologinės ligos.³⁵

Rekomenduojami atviro NVD nustatymo protokolai buvo išleisti literatūroje.^{33, 35} Siekiant optimizuoti tiriamos populiacijos poreikius, galima naudoti ribines AFP koncentracijas motinos serume ir vaisiaus vandenyse, gautas matuojant atviro NVD įvairiose išsivystymo stadijose. Tokios ribos paprastai apima medianos kartotinius (multiples of the median; MoM's), lygius 2,0 arba 2,5 tiriant MSAFP ir VVAFP. Optimalus MSAFP tikrinimo laikas yra tarp 16-tos ir 18-tos nėštumo savaitės, nors toks patikrinimas vertingas ir prieš šį periodą, ir vėliau. Aukštos AFP

koncentracijos patvirtinimui gali reikšti atlikti keletą ar keliolika jo tyrimų bei papildomai analizuoti gautus duomenis, kad būtų išvengta trumpalaikio AFP lygio padidėjimo įtakos.

Nustatant daugybinį nėštumą bei nėštumo laiką dažniausiai naudojama ultrasonografija. Ultrasonografija be to įmanoma identifikuoti kai kuriuos atviro NVD požymius, konkrečiai, anencefaliją, kuri yra didelis, lengvai pastebimas pakitimas. Jei atliekant nėštumo laiko korekciją arba nustatant daugybinį nėštumą aptinkama AFP koncentracija už normos ribų, tada rekomenduojama diagnostinė ultrasonografija ir/arba vaisiaus vandenų mėginio tyrimas. Gavus teigiamus MSAFP rezultatus, tiksliausia diagnostika galima derinant biocheminį vaisiaus vandenų tyrimą ir diagnostinę ultrasonografiją.³⁵

Aukšti MSAFP rezultatai neturi diagnostinės vertės nustatant NTD ir negali būti laikomi nėštumo nutrūkimo priežastimi. AFP koncentracijos pasiskirstymas nėštumo su ir be atviro NVD atvejais iš dalies sutampa. Pavyzdžiui, uždaro NVD paprastai nėra susiję su padidėjusiomis MSAFP ir VVAFP koncentracijomis. Taigi, embriono būklei nustatyti reikia papildomo tyrimo. Atsižvelgiant į išsakytus svarstymus ir aukštą AFP koncentracijos priežastį gausą prieš nustatant galutinę diagnozę reikėtų įvertinti visą surinktą klinikinę informaciją bei atlikti diagnozę patvirtinančius tyrimus.

AFP lygį galima išmatuoti keliais imunologiniais metodais, priklausomai nuo pageidaujamo analitinio jautumo laipsnio. Tokiems tyrimams gerai pritaikyti šie trys metodai: radialinė imunodifuzija, *countercurrent* imunoelektroforezė ir *rocket* imunoelektroforezė. Klinikiniams motinos serumo ir vaisiaus vandenų matavimams buvo sėkmingai pritaikyti ir fermentiniai imuniniai bei radioimuniniai tyrimai, tiek konkurentiniai, tiek ir nekonkurentiniai.

Pastaba: dėl IMMULITE 2000 AFP gydytojo lankstinuko (kat. Nr. ZS1105) ir paciento lankstinuko (kat. Nr. ZS1106), kuriuose aiškinamas priešgimdyminio AFP tyrimo naudingumas padedant nustatyti vaisiaus atviro NTD, galite kreiptis į

Siemens Healthcare Diagnostics atstovą
jūsų šalyje.

Atlikimo metodika

IMMULITE 2000 AFP yra kietos fazės,
nuoseklus, chemiluminescencinis
imunometrinis tyrimas.

Inkubacijos ciklai: 2 × 30 minučių

Mėginio paėmimas

Serumas: venipunktūra³¹ paimkite kraujo į
paprastus mėgintuvėlius ir kaip įmanoma
greičiau atskirkite serumą nuo ląstelių.
Mėginys bus tinkamas tyrimui tik tuo
atveju, jei bus gautas iki amniocentezės.

Lipeminių mėginių išvalymui
rekomenduojama naudoti
ultracentrifugavimą.

Hemolizuoti mėginiai gali reikšti netinkamą
mėginio paėmimą ir paruošimą prieš jam
patenkant į laboratoriją; taigi tokius
rezultatus reikia interpretuoti atsargiai.

Ikteriniai arba pernelyg užteršti mėginiai
gali nulemti klaidingus rezultatus.

Jei mėginiai centrifuguojami ne visiškai
sukrešę, gali atsirasti fibrino. Norėdami
išvengti klaidingų rezultatų, įsitikinkite, kad
prieš centrifugavimą įvyko pilnas
sukrešėjimas. Kai kuriems mėginiams,
ypač pacientų, vartojančių
antikoagulantus, reikalingas ilgesnis
krešėjimo laikas.

Naudojant skirtingų gamintojų kraujo
paėmimo mėgintuvėlius galimi skirtingi
rezultatai, priklausantys nuo medžiagų ir
priedų, įskaitant gelio ar fizines pertvaras,
krešėjimo skatintojus ir/arba
antikoagulantus. IMMULITE 2000 AFP
nebuvo testuotas su visais galimais
mėgintuvėlių tipais.

Vaisiaus vandenys: vaisiaus vandenį
amniocentezės būdu paimkite į paprastus
mėgintuvėlius. Mėginius aseptine
transabdominaline amniocenteze turi
paimti patyręs gydytojas-akušeris antro
nėštumo trimestro metu, kai nėštumo
laikas tiksliai nustatytas. Mėginį
centrifuguokite, atskirdami skaidrią
mėginio dalį. Apžiūrėkite išvalytus
vandenį bei nuosėdas, ieškodami kraujo
arba hemoglobino pėdsakų, kadangi
mėginio užteršimas net labai nedideliais
vaisiaus audinių kiekiais ženkliai padidins
AFP koncentraciją ir mėginys taps

netinkamas tyrimui. Vaisiaus audinių
buvimas vandenyse turi būti nustatytas
vaisiaus hemoglobino tyrimu. Jei
užteršimas audiniais įvyko ir AFP
koncentracija yra padidėjusi, praėjus 7–10
dienų turi būti paimtas papildomas
mėginys naujam įvertinimui. Vaisiaus
vandenų užteršimą motinos serumu gali
rodyti tikslūs AFP lygio matavimai su
sąlyga, jei užteršimas nėra toks didelis,
kad atskiestų mėginį. Todėl šiame
pakuotės apraše *vaisiaus vandenys*
suprantami kaip išvalytas mėginys
(supernatantas), gautas centrifuguojant
vaisiaus vandenį.

**Laiko nustatymas: vertinant AFP
rezultatus labai svarbu žinoti nėštumo
laiką. Rekomenduojamas serumo
mėginio paėmimo laikas yra 16–18
savaičių, vaisiaus vandenų – 16–20
savaičių. Serumo mėginiai turi būti
paimti prieš amniocentezę, kadangi ši
procedūra gali sąlygoti klaidingai
aukštas motinos serumo reikšmes,
išliekančias tokiomis nuo 2 iki 3
savaičių.**

Reikalingas kiekis

Serumo: 10 µl

Vaisiaus vandenys: 10 µl iš anksto
atskiesto vaisiaus vandenų mėginio

**Vaisiaus vandenų skiedimo
koeficientas:** 100

Visi vaisiaus vandenų mėginiai prieš
tyrimą pirmiausia turi būti automatiškai
atskiesti multi-skiedikliu 2 santykiu 1:101.
Skiedimo koeficiento lange pasirinkite 100.

Saugojimas

Serumas: 3 dienos 2–8°C temperatūroje.
Jei nesunaudojama per tris dienas,
užšaldyti –20°C temperatūroje.

Vaisiaus vandenys: vaisiaus vandenų
mėginiai turi būti saugomi –20°C
temperatūroje. Siekiant išvengti
daugkartinio mėginių užšaldymo ir
atitirpimo, jei reikia, išpilstykite mažais
kiekiais. Prieš tyrimą leiskite mėginiui
sušilti iki kambario temperatūros
(15–28°C), išmaišykite *švelniai* sukdami ar
vartydami mėgintuvėlį. Nemėginkite
mėginių atitirpinti šildydami juos vandens
vonelėje. Jei mėginius reikia išsiųsti ir
gabenimo laikas turėtų viršyti 72 valandas,
arba spėjama, kad gabenimas gali vykti
aukštesnėje temperatūroje, supakuokite

juos sausame lede. Jei reikia pakartotino tyrimo, siekiant išlaikyti rezultatų nuoseklumą reikia naudoti pradinį mėginį.

Perspėjimai ir atsargumo priemonės

Diagnosticiniam naudojimui *in vitro*.

Reagentai: saugokite 2–8°C temperatūroje. Utilizuokite vadovaudamiesi galiojančiais įstatymais.

Laikykitės darbo saugos taisyklių. Su visais komponentais elkitės kaip su medžiagomis, galinčiomis perduoti infekciją. Medžiagos, gautos iš žmogaus kraujo, buvo patikrintos – nustatyta, kad jos nereaktyvios sifiliui, ŽIV 1 ir 2 antikūnams, hepatito B paviršiniams antigenai ir hepatito C antikūnams.

Kaip konservantas buvo panaudotas mažesnės nei 0,1 g/dl koncentracijos natrio azidas. Utilizuodami nuplaukite dideliu kiekiu vandens siekiant apsisaugoti nuo potencialiai sprogių metalo azidų susikaupimo šviniuose ir variniuose vamzdžiuose.

Chemiliuminescencinis substratas: saugokite nuo užteršimo ir tiesioginių saulės spindulių (žr. aprašą).

Vanduo: naudokite distiliuotą arba dejonizuotą vandenį.

Pateikiamos priemonės

Pateikiami komponentai sudaro vientisą rinkinį. Pakuotėje esantys brūkšninių kodų lipdukai reikalingi tyrimų atlikimui.

AFP rutuliukų paketas (L2AP12)

Su brūkšniniu kodu. 200 rutuliukų, padengtų monokloniniais pelės prieš AFP veikiančiais antikūnais. 2–8°C temperatūroje stabilūs iki nurodytos galiojimo datos.

L2KAP2: 1 paketas **L2KAP6:** 3 paketai

AFP reagento indelis (L2APA2)

Su brūkšniniu kodu. 11,5 ml proteino buferio/ne žmogaus serumo matricoje ir 11,5 ml šarminės fosfatazės (iš veršiuko žarnos), konjuguotos su polikloniniais triušio prieš AFP veikiančiais antikūnais buferyje. 2–8°C temperatūroje stabilūs iki nurodytos galiojimo datos.

L2KAP2: 1 indelis **L2KAP6:** 3 indeliai

Prieš naudojimą nuplėškite lipduko viršų ties pažymėta linija, nepažeisdami brūkšninio kodo. Nuo indelio viršaus nuimkite folinę apsauginę plėvelę; įstatykite į vietą ir užfiksuokite slankiojantį reagento indelio dangtelį.

AFP kalibratoriai (L2APJ3, L2APJ4)

Du buteliukai (žemas ir aukštas kalibratoriai), kiekviename po 2,0 ml AFP veršiuko serumo matricoje. 2–8°C temperatūroje stabilūs 30 dienų nuo atidarymo arba 6 mėnesius (išpilstyti mažais kiekiais) užšaldžius iki –20°C.

L2KAP2: 1 rinkinys **L2KAP6:** 2 rinkiniai

Prieš kalibratorių tyrimą ant mėgintuvėlių užklijuokite reikiamus lipdukus (jie pateikiami rinkinyje), kad brūkšninius kodus galėtų nuskaityti analizatoriuje esantis skaitytuvas.

Atskirai pateikiami rinkinio komponentai

Multi-skiediklis 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Automatiniam serumo ir vaisiaus vandenų mėginių su aukštomis reikšmėmis skiedimui. Vienas buteliukas koncentruotos (paruoštos naudojimui) ne žmogaus baltymo/buferio matricos, su konservantu. Saugojimas: 2–8°C temperatūroje 30 dienų nuo atidarymo arba 6 mėnesius (išpilstyti mažais kiekiais) užšaldžius iki –20°C.

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

Naudojimui su skiedikliu pateikiami brūkšninio kodo lipdukai. Prieš naudojimą ant 16 × 100 mm tyrimo mėgintuvėlių užklijuokite reikiamus lipdukus, kad brūkšninius kodus galėtų nuskaityti analizatoriuje esantis skaitytuvas.

L2M2Z: 3 lipdukai **L2M2Z4:** 5 lipdukai

Tyrimui vaisiaus vandenų mėginiai turi būti atskiesti santykiu 1:101 (automatiškai multi-skiedikliu 2).

L2SUBM: chemiliuminescencinis substratas

L2PWSM: adatos ploviklis

L2KPM: adatos valymo rinkinys

LRXT: reakcijos indeliai (vienkartiniai)

L2ZT: 250 mėginių skiediklio mėgintuvėlių (16 × 100 mm)

L2ZC: 250 mėginių skiediklio mėgintuvėlių dangtelių

Taip pat reikia distiliuoto arba dejonizuoto vandens, mėgintuvėlių, kontrolių

Tyrimo procedūra

Atminkite, kad siekiant užtikrinti optimalų darbo procesą svarbu atlikti visas įprastinės priežiūros procedūras, nurodytas IMMULITE 2000 Sistemų vartotojo instrukcijoje.

IMMULITE 2000 Sistemų vartotojo instrukcijoje aprašomos šios procedūros paruošimas, nustatymas, skiedimas, kalibracija, tyrimų atlikimas ir kokybės kontrolė.

Rekomenduojamas kalibracijos intervalas: 4 savaitės

Kokybės kontrolės mėginiai: Kokybės kontrolės dažnumo informacijos žr. valstybinėse taisyklėse arba akreditacijos reikalavimuose.

Kontroles ar serumo mėginius naudokite bent su dviem AFP lygiais (žemu ir aukštu).

Siemens Healthcare Diagnostics rekomenduoja naudoti komerciškai platinamas kokybės kontrolės medžiagas – mažiausiai 2 lygių (aukšto ir žemo). Patenkinamas tyrimo veikimo lygis pasiekiamas, jei gautos analizės tyrimo reikšmės patenka į priimtino kokybės intervalo ribas arba ribas, kurios yra nustatytos atitinkama laboratorijos vidinės kokybės kontrolės schema.

Tikėtinios reikšmės

Sėklidės vėžiu sergančių pacientų tikėtinios AFP reikšmės

Remiantis šio tyrimo giminingumu su IMMULITE AFP tyrimu (žr. „Metodų palyginimas“) galima tikėtis, kad jų normos ribos bus iš esmės vienodos.

Dvejose klinikose atliktame tyrime IMMULITE AFP procedūra buvo ištirti 119 mėginių, paimtų iš sveikų vyrų (amžiaus mediana: 61 metai; centrinis 95% intervalas: nuo 27 iki 79 metų). Gauti rezultatai pasiskirstė 0,5–5,5 IU/ml ribose, mediana – 1,6 IU/ml; ir 99-tas procentilis – 5 IU/ml.

Taip pat buvo ištirti vyrų, sergančių sėklidės vėžiu; kitomis piktybinėmis (kepenų, šlapimo pūslės, inkstų, kasos, plaučių,

prostatos ir gaubtinės žarnos) ligomis; nepiktybinėmis (tokiomis kaip cirozė, hepatitas B ir C, opinis kolitas, emfizema, tiesiosios ir išėinamosios žarnos polipai) ligomis bei kelių sveikų moterų mėginiai. Šiame tyrime gautas IMMULITE AFP rezultatų pasiskirstymas pateikiamas žemiau esančioje lentelėje (kiekvienos grupės tiriamųjų skaičius nurodytas skliausteliuose).

IU/ml: < 5 5–15 15–100 > 100

Vyrai

Sveiki vyrai (119)	118	1	—	—
Seminominis sėklidės vėžys (6)	6	—	—	—
Neseminominis sėklidės vėžys (60)	14	8	15	23
Kepenų vėžys (10)	3	—	2	5
Kitos piktybinės ligos (40)	36	1	—	3
Cirozė (4)	3	1	—	—
Hepatitas (24)	19	4	1	—
Kitos nepiktybinės ligos (6)	5	—	—	1

Moterys

Sveikos moterys (29)	29	—	—	—
Piktybinės ligos (20)	18	—	1	1
Nepiktybinės ligos (16)	15	—	1	—

Šias ribas vertinkite tik kaip *orientacines*. Kiekviena laboratorija turi nusistatyti savo normos ribas.

Tikėtina, kad neseminominiu sėklidės vėžiu sergančių pacientų AFP tyrimo reikšmės pasiskirstys sveikų suaugusių vyrų normos ribose arba jas viršys. Seminomos savo tikru pavidalu nėra susijusios su padidėjusia AFP koncentracija, tačiau ji nustatoma serume pacientų, kuriems diagnozuotos

seminomos, lydimos neseminominių sėklidės vėžio metastazių.⁸

Žymus AFP lygio padidėjimas organizme pacientų, kurie, kaip buvo manoma, nebeturėjo auglio metastazių, gali reikšti, kad metastazės vis tik vystosi. Padidėjęs AFP lygis po chirurginės operacijos gali rodyti, kad auglys buvo pašalintas nevisiškai ir paciento organizme yra likę metastazių.

Aukštos AFP serume reikšmės susijusios ir su gerybinėmis kepenų ligomis, tokiomis kaip hepatitas ir cirozė. Daugumos (95%) šiomis gerybinėmis ligomis sergančių pacientų AFP koncentracija yra mažesnė už 200 ng/ml (165 IU/ml).⁸⁻¹⁵

Tikėtinos AFP reikšmės motinos serume ir vaisiaus vandenyse

Dėl potencialiai galimos skirtingose laboratorijose atliekamų tyrimų rezultatų variacijos rekomenduojama, kad kiekvienas tyrimų centras pats nustatytų AFP reikšmių, išmatuotų konkrečioje tiriamųjų populiacijoje, 15–20 nėštumo savaitėmis medianas. Motinos serumo ir vaisiaus vandenų tyrimo ribinės reikšmės paprastai apima medianos kartotinius (MK), lygius 2,0 arba 2,5. Kiekvienas AFP tyrimo rezultatas gali būti išreikštas kaip sveikos populiacijos medianinės reikšmės kartotinis. Jis skaičiuojamas AFP reikšmę dalinant iš atitinkamos nėštumo savaitės medianos. Šiuo atveju nėštumo savaitėmis laikomos pasibaigusios nėštumo savaitės; pvz., 16-os savaitės ir 6-ių dienų nėštumas laikomas 16-os savaitės nėštumu. Rekomenduojama, kad kiekvienai nėštumo savaitei apskaičiuojamų medianos ir medianos kartotinių reikšmės remtųsi mažiausiai 100 motinos serumo ir 50 vaisiaus vandenų, paimtų iš sveikų moterų, nešiojančių vieną vaisių, ir su patvirtintu nėštumo laiku, rezultatais.

Apačioje esančioje lentelėje pateikiamos *motinos serumo* mėginių medianos, apskaičiuotos svorinės logaritminės-tiesinės regresijos metodu pagal sveikų, vieno vaisiaus nėštumų duomenis, gautus trijose JAV klinikose:

Nėštumo savaitė	Ištirtų mėginių skaičius	Medianos IU/ml*	Medianų kartotiniai pritaikius regresinę analizę (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

*Pritaikius regresinę analizę

Apačioje esančioje lentelėje pateikiamos *vaisiaus vandenų* mėginių medianos, apskaičiuotos svorinės logaritminės-tiesinės regresijos metodu pagal sveikų, vieno vaisiaus nėštumų duomenis, gautus dvejose JAV klinikose:

Nėštumo savaitė	Ištirtų mėginių skaičius	Medianos kIU/ml*	Medianų kartotiniai pritaikius regresinę analizę (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

*Pritaikius regresinę analizę

Apribojimai

Diagnozei: nustačius aukštą AFP lygį serume, kurį nulėmė ne neseminominis sėklidės vėžys, o kitos priežastys, šios AFP reikšmės negali būti naudojamos diagnozuojant neseminominį sėklidės vėžį.

Patikrinimas: AFP matavimai negali būti rekomenduojami kaip vėžio atvejų bendroje populiacijoje nustatymo priemonė. Padidėjusi AFP koncentracija serume aptinkama ne tik neseminominiu sėklidės vėžiu sergančių pacientų mėginiuose, bet ir piktybinių ligų, tokių kaip hepatoceliulinės karcinomos, kiaušidžių, virškinimo trakto ir plaučių vėžio atvejais. Aukštas AFP lygis serume būdingas ir tokioms nepiktybinėms ligoms kaip ūmus virusinis hepatitas, lėtinis aktyvus hepatitas ir cirozė. Nėštumas, ataxia telangiectasia ir įgimta tirozinemija taip pat pasižymi aukšta AFP koncentracija.

Priešgimdyminis tikrinimas: norint patikimai įvertinti priešgimdyminį AFP lygį, reikia tiksliai nustatyti nėštumo laiką. Nėštumo laiko sumažinimas gali įtakoti klaidingai teigiamus rezultatus, o nėštumo laiko padidėjimas – klaidingai neigiamą įvertinimą. Jei kyla abejonių dėl nėštumo laiko, rekomenduojama jį patvirtinti ultrasonografija.

Žmogaus serume esantys heterofiliniai antikūnai gali reaguoti su tyrimo komponentų sudėtyje esančiais imunoglobulinais, sukeldami interferenciją *in vitro* imunotyrimuose (žr. Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34:27-33). Pacientų, dažnai kontaktuojančių su gyvūnais ar gyvūnų serumo produktais, mėginiuose gali įvykti nurodyta interferencija, potencialiai nulemdama klaidingą rezultatą. Šie reagentai buvo sukurti siekiant minimizuoti interferencijos pavojų, tačiau nedidelė sąveikos tarp retų serumo ir tyrimo komponentų galimybė išlieka. Rezultatai, gauti atlikus šį tyrimą, diagnostiniais tikslais visada turi būti įvertinti atsižvelgiant į klinikinę apžiūrą, paciento ligos istoriją ir kitus duomenis.

Tyrimo duomenys

Tyrimui *tipiškus* duomenis rasite lentelėse ir grafikuose. Rezultatai pateikiami IU/ml (jei kitaip nenurodyta, visi rezultatai gauti tiriant serumo mėginius, paimtus iš sėklidės vėžiu sergančių pacientų).

Perskaičiavimo koeficientas:

$\text{IU/ml} \times 1,21 \rightarrow \text{ng/ml}$

Kalibracijos intervalas: iki 300 IU/ml (363 ng/ml) (PSO 1-as TS 72/225)

Analitinis jautrumas: 0,2 IU/ml (0,24 ng/ml)

Prozonos efektas: nėra iki 534 000 IU/ml

Tikslumas: septyni dubliuoti mėginiai buvo tirti 20 dienų kurso metu, dukart per dieną, iš viso – 40 kartų ir 80 pakartojimų (žr. lentelę "Precision").

Linijškumas: buvo ištirti skirtingais santykiais atskiesti serumo ir vaisiaus vandenų mėginiai (tyrimui tipiškus duomenis žr. lentelėje "Linearity").

Atstatomumas: buvo ištirti serumo mėginiai, santykiu 1:20 sumaišyti su trimis skirtingos koncentracijos (286, 700 ir 1324 IU/ml) AFP tirpalais. Vaisiaus mėginiai, santykiu 1:20 sumaišyti su trimis aukštas reikšmes turinčiais vaisiaus vandenų mėginiais (10 000, 20 000 ir 36 000 IU/ml), taip pat buvo ištirti (tyrimui tipiškus duomenis žr. lentelėje "Recovery").

Specifiškumas: tyrimas labai specifiškas AFP (žr. lentelę "Specificity").

Bilirubinas (nekonjuguotas): remiantis tyrimo giminingumu su IMMULITE AFP tyrimu, bilirubinas daro nedidelį, tačiau (*t*-testu išmatuojamą) statistiškai reikšmingą poveikį (žr. IMMULITE AFP tyrimo lentelę "Bilirubin").

Hemolizė: hemoglobino koncentracija iki 192 mg/dl neturi poveikio rezultatams tyrimo tikslumo ribose.

Lipemija: trigliceridų koncentracija iki 3000 mg/dl neturi poveikio rezultatams tyrimo tikslumo ribose.

Metodų palyginimas – sėklidės vėžio tyrimai: aprašomas tyrimas buvo palygintas su IMMULITE AFP tyrimu. Palyginimas atliktas ištyrus 205 mėginius vyriškos lyties pacientų, esančių skirtingose klinikinėse stadijose – iki arba po **neseminomatinio sėklidės vėžio** operacijos (koncentracijos intervalas: apytiksliai 0,3–280 IU/ml). Pagal tiesinę regresiją:

$(\text{IML } 2000) = 1,04 (\text{IML}) + 0,34 \text{ IU/ml}$
 $r = 0,998$
 $n = 205$

95% patikimumo ribos (CI)	Posvyris	Sankirta
Apatinė	1,03	–0,51
Viršutinė	1,05	1,20

Metodų palyginimas – nervinio vamzdelio defektų tyrimai: dvejuose atskiruose klinikiniuose tyrimuose, atliktuose JAV, IMMULITE 2000 AFP rezultatai tiesinės regresijos analize buvo palyginti su įteisintais tyrimais (rinkiniais A ir B) matuojant **motinos serumo** mėginius nuo neaptinkamos iki 300 IU/ml koncentracijos intervale:

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

95% patikimumo ribos (CI)	Posvyris	Sankirta
Apatinė	0,89	0,94
Viršutinė	0,93	2,68

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

95% patikimumo ribos (CI)	Posvyris	Sankirta
Apatinė	0,72	4,66
Viršutinė	0,74	5,79

Viename iš aukščiau minėtų tyrimų IMMULITE 2000 AFP rezultatai tiesinės regresijos analize buvo palyginti su rinkiniu B **vaisiaus vandenų** mėginiams nuo neaptinkamos iki 286 kIU/ml koncentracijos intervale*.

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

95% patikimumo ribos (CI)	Posvyris	Sankirta
Apatinė	0,77	1,78
Viršutinė	0,81	2,76

* Vaisiaus vandenų mėginiai IMMULITE 2000 analizatoriuje buvo automatiškai atskiesti santykiu 1:101.

Aprašomas tyrimas taip pat buvo palygintas su IMMULITE AFP tyrimu matuojant **vaisiaus vandenų**, kurių koncentracija pasiskirstė apytiksliai nuo 3 iki 20 kIU/ml intervale, mėginius (žr. grafiką). Pagal tiesinę regresiją:

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

Vidurkiai:
 10,0 kIU/ml (IMMULITE)
 10,8 kIU/ml (IMMULITE 2000)

95% patikimumo ribos (CI)	Posvyris	Sankirta
Apatinė	0,93	-0,50
Viršutinė	1,12	1,54

* Vaisiaus vandenų mėginiai IMMULITE 2000 analizatoriuje buvo automatiškai atskiesti santykiu 1:101.

Tyrimas buvo palygintas su IMMULITE AFP tyrimu matuojant **motinos serumo** mėginius, kurių koncentracija pasiskirstė apytiksliai nuo 10 iki 120 IU/ml intervale. Pagal tiesinę regresiją:

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

Vidurkiai:
 33,8 IU/ml (IMMULITE)
 34,3 IU/ml (IMMULITE 2000)

95% patikimumo ribos (CI)	Posvyris	Sankirta
Apatinė	0,99	-0,60
Viršutinė	1,03	0,91

Klinikinis jautrumas motinos serumui, n = 9:

Nėštumo savaitė	% > 2,0 MK	% > 2,5 MK	% > 3,0 MK
15–20	100%	77,8%	66,7%
Visų mėginių 95% CI	66,4%–100%	40,0%–97,2%	29,9%–92,5%

Klinikinis specifiškumas motinos serumui:

Nėštu- mo savaitė	n	% ≤ 2,0 MK	% ≤ 2,5 MK	% ≤ 3,0 MK
15	276	94,2%	97,5%	98,6%
16	304	96,1%	99,0%	99,7%
17	272	97,1%	99,3%	99,6%
18	287	95,8%	98,6%	99,3%
19	152	93,4%	98,0%	99,3%
20	41	95,1%	100%	100%
15–20	1332	95,5%	98,6%	99,3%
Visų mėginių 95% CI		94,2%– 96,5%	97,8%– 99,1%	98,7%– 99,7%

Klinikinis jautrumas vaisiaus vandenims, n = 8:

Nėštumo savaitė	% > 2,0 MK	% > 2,5 MK	% > 3,0 MK
15–20	87,5%	87,5%	87,5%
Visų mėginių 95% CI	47,3%– 99,7%	47,3%– 99,7%	47,3%– 99,7%

Klinikinis specifiškumas vaisiaus vandenims:

Nėštu- mo savaitė	n	% ≤ 2,0 MK	% ≤ 2,5 MK	% ≤ 3,0 MK
15	53	100%	100%	100%
16	50	98,0%	100%	100%
17	28	100%	100%	100%
18	20	100%	100%	100%
19	13	92,3%	100%	100%
20	10	100%	100%	100%
15–20	174	98,9%	100%	100%
Visų mėginių 95% CI		95,9%– 99,9%	97,9%– 100%	97,9%– 100%

Techninė Pagalba

Dėl techninės pagalbos, susisieki su vietiniu atstovu.

www.siemens.com/diagnostics

Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd.
kokybės sistema sertifikuota pagal
ISO 13485:2003.

Norsk

IMMULITE 2000 AFP

Anvendelsesområde: For *in vitro* diagnostisk bruk med IMMULITE 2000 instrumentene til kvantitativ måling av alfa-føtoprotein (AFP) i én av følgende sammenhenger: (a) seriemålinger i humant serum til hjelp ved behandling av pasienter med ikke-seminomatøs testikkelkreft, eller (b) målinger i maternelt serum og fostervann i svangerskapsukene 15–20 — sammen med ultralyd- eller amniografi — til hjelp ved påvisning av føtal åpen nevrallrørsdefekt.

Katalognummer: **L2KAP2** (200 tester)
L2KAP6 (600 tester)

Analysekode: **AF** Farge: **Lys grå**

Konsentrasjonen av AFP i en prøve som er bestemt ved analyser fra ulike produsenter, kan variere som følge av forskjeller i analysemetodene og reagensspesifisitet. **Resultat som rapporteres av laboratoriet til legen, skal inkludere hvilken analysemetode som er benyttet. Verdier fra ulike AFP-analyser, kan ikke sammenliknes direkte.** Før bytte av analysemetode skal laboratoriet gjøre følgende: (a) ved kreftbehandling — bekrefte basalverdier for pasienter som overvåkes kontinuerlig, (b) ved prenatal testing — opprette et referanseområde for den nye analysemetoden basert på normalt serum og fostervann fra gravide kvinner med bekreftet gestasjonsalder.

Sammendrag og forklaring

Alfa-føtoprotein (AFP) er et enkeltkjedet glykoprotein med en molekylvekt på omkring 70 000 dalton. AFP har stor sekvenshomologi med albumin, og det produseres av fosteret, hovedsakelig i celler i plommesekken, gastrointestinalkanalen og leveren. AFP er et viktig serumprotein i fosteret, men konsentrasjonen reduseres sterkt etter fødselen.^{1,2,3} Tilbakevendende forhøyet konsentrasjon av AFP i serum fra voksne

forekommer ikke bare under svangerskap, men også i forbindelse med flere benigne og maligne sykdommer.

Testikkelkreft

Det er påvist forhøyede nivåer av AFP ikke bare hos pasienter med ikke-seminomatøs testikkelkreft, men også hos pasienter med andre maligne sykdommer som hepatocellulært karsinom, eggstokkreft, gastrointestinal kreft og lungekreft.⁸⁻¹⁵ Serum-AFP er ofte forhøyet ved benigne hepatiske tilstander, for eksempel akutt viral hepatitt, kronisk aktiv hepatitt og skrumplever. Det er også påvist forhøyede AFP-konsentrasjoner ved graviditet, ataxia telangiectasia og hereditær tyrosinemi.⁸⁻¹⁵

Rene seminomer fører ikke til forhøyede AFP-konsentrasjoner. Forhøyede konsentrasjoner av serum-AFP er imidlertid påvist hos pasienter som er diagnostisert med seminomatøs testikkelkreft sammen med ikke-seminomatøse metastaser.^{9,16,18,19} Det er også påvist forhøyede konsentrasjoner av serum-AFP under behandling med kjemoterapi av pasienter med langt fremskredet seminom og nedsatt leverfunksjon.²⁰ Tolkningen av forhøyede AFP-konsentrasjoner hos pasienter med seminom krever særlige hensyn og skal hjelpe legen i valg av riktig behandling.^{8,15,21}

Den kliniske nytten av AFP-måling som et hjelpemiddel ved behandling av pasienter med ikke-seminomatøs testikkelkreft, er veldokumentert.^{9,16,17,18,22} AFP-måling benyttes klinisk som et hjelpemiddel ved vurdering av sykdommens omfang.^{18,22-26}

Det er påvist at seriemålinger av serum-AFP beskriver effekten av behandlingen på pasienter med ikke-seminomatøse testikkeltumorer.^{9,15,17,26,27} Postskirurgiske målinger av AFP er spesielt verdifulle. Hvis postoperative AFP-konsentrasjoner ikke viser normale nivåer, er dette en sterk indikasjon på at det finnes residualtumor.^{9,15,28,29} En nøyaktig tolking av postskirurgiske endringer i AFP-konsentrasjon krever vurdering av den metabolske nedbrytingsgraden.^{21,22,24,25} Ved bruk av AFP til overvåking av behandling eller residiv under kjemoterapi, må det bemerkes at nivåene ofte faller raskt under slik behandling og kan nå

normale nivåer selv om tumormasse fremdeles er til stede.^{17,21} I slike tilfeller anbefales det at den planlagte behandlingen fullføres.²¹

Etter behandling eller kirurgi har det vist seg at seriemålinger av AFP er klinisk nyttige ved overvåking av utvikling eller residiv av sykdom hos pasienter med ikke-seminomatøs testikkelkreft. Det er rapportert om at AFP-nivåer ofte stiger under sykdommens progresjon og faller under sykdommens remisjon.^{9,17,18}

Forhøyede AFP-nivåer er ofte blitt påvist sammen med tilbakevendende tumor før progressiv sykdom er påvist klinisk.^{9,18}

Føtale åpne nevrالرrørdefekter

AFP kan måles ikke bare i føtalt serum, men også i fostervann og maternelt serum. Det finnes en konsentrasjonsgradient, og den gir at når AFP-nivået for føtalt serum er 2000 kIU/ml, vil AFP-nivået for fostervann (AFAFP) være 20 kIU/ml og for maternelt serum (MSAFP) 0,02 kIU/ml. Ved normal graviditet vil AFP-konsentrasjonen i føtalt serum nå maksimal konsentrasjon i 14. svangerskapsuke.³⁴ AFAFP-konsentrasjonen når maksimal konsentrasjon etter omkring 12 uker, og MSAFP når maksimal konsentrasjon etter omkring 28.–32. svangerskapsuke.³⁶ Fallet i AFAFP-konsentrasjon gjenspeiler fallet i AFP-konsentrasjonen for føtalt serum, noe som skyldes økt fosterstørrelse og væskevolum.³⁴ Forhøyede MSAFP- og AFAFP-verdier forekommer som oftest som følge av flerfostergraviditet og feil gestasjonsalder.

Måling av AFP-konsentrasjoner er klinisk nyttig ved screening for åpen nevrالرrørdefekt og andre anormaliteter på fosteret,³⁵ ettersom svangerskap med åpen nevrالرrørdefekt viser forhøyede AFP-nivåer. Overskytende AFP går over i fostervannet og i mindre grad til maternelt serum ved transudasjon gjennom fosterets eksponerte overflate eller gjennom skadet glomeruli.^{35,37} Slike tilstander oppstår ved åpen nevrالرrørdefekt inkludert åpent ryggmargsbrokk og anencefali, omfalocoele og medfødt nefrose.^{32,38} Andre årsaker til forhøyede AFP-konsentrasjoner hos både mor og barn er forestående spontanabort, fosterskader eller -død, oligohydramnios, blodforgiftning, gastroschise, Meckels syndrom, sakroccocygealt teratom,

Turners syndrom og hepatiske og onkologiske sykdommer hos mor.³⁵

Anbefalte fremgangsmåter for screening av åpne nevrالرrdsdefekter er publisert.^{33,35} Grenseverdier for maternelt serum og fostervann kan angis for å optimalisere behovet til populasjonen som testes, basert på varierende forekomst av åpne nevrالرrdsdefekter. Cutoff-verdier er vanligvis multipler av medianverdi på 2,0 eller 2,5 ved MSAFP- og AFAFP-testing. Det optimale tidspunktet for screening av MSAFP er mellom 16. og 18. svangerskapsuke, men screening er likevel effektiv før og etter denne perioden. Gjentatt prøvetaking og analysing ved forhøyede AFP-konsentrasjoner kan foretas for å utelukke forbigående økninger.

Vanligvis vil ultralydundersøkelser bli gjennomført for å utelukke flerfostergraviditeter og for å bekrefte gestasjonsalderen. Ultralydundersøkelser kan også identifisere tegn på åpne nevrالرrdsdefekter, spesielt anencefali som er en stor, lett synlig lesjon. Hvis korrigering for gestasjonsalder eller flerfostergraviditet ikke fører til en AFP-konsentrasjon innenfor normalverdiområdet, vil det være behov for diagnostisk ultralydundersøkelse og/eller fostervannsprøver. Størst diagnostisk effekt oppnås gjennom en kombinasjon av biokjemisk analyse av fostervannet og diagnostisk ultralydundersøkelse i tilfeller med positiv MSAFP-screening.³⁵

Forhøyede MSAFP-resultater er ikke diagnostiske for nevrالرrdsdefekter og skal ikke vurderes som grunnlag for svangerskapsavbrudd. Det er en viss overlapping i fordelingen av AFP-konsentrasjonene fra svangerskap med og uten åpne nevrالرrdsdefekter. Eksempelvis forekommer vanligvis ikke lukkede nevrالرrdsdefekter sammen med forhøyede MSAFP- eller AFAFP-konsentrasjoner. Derfor er det behov for ytterligere testing for å fastslå fosterstatusen. Med bakgrunn i disse vurderingene og de mangfoldige årsakene til forhøyede AFP-konsentrasjoner må all klinisk informasjon evalueres og bekreftelsestester utføres i de tilfellene der det er mulig, før en diagnose fastsettes.

AFP kan måles ved hjelp av flere immunologiske teknikker, avhengig av graden av ønsket følsomhet. Tre metoder som er velegnet til forskningsformål, er radiell immunodiffusjon, motstrømsimmunoelktroforese og rakett-immunoelktroforese. Både kompetitive og ikke-kompetitive "enzyme-linked immunosorbent assays" (ELISA) og radioimmunoanalyser er benyttet med vellykket klinisk resultat ved målinger av både maternelt serum og fostervann.

Merk: IMMULITE 2000 AFP Legebrosjyre (kat.nr. ZS1105) og pasientbrosjyre (kat.nr. ZS1106) som beskriver hvordan prenatal AFP- testing anvendes som hjelp til påvisning av føtal åpen nevrالرrdsdefekt, er tilgjengelig fra din nasjonale forhandleren.

Analyseprinsipp

IMMULITE 2000 AFP er en sekvensiell kjemiluminescens immunometrisk analyse med dobbel binding med fast fase.

Inkubasjon: 2 × 30 minutter

Prøvetaking

Serum: Bruk venepunksjon³¹ og tapp blod i rør uten tilsetning, og separer serum fra blodlegemene så snart som mulig. Prøvene må tas før amniocentese (fostervannsprøve) for at de skal kunne brukes.

Til behandling av lipemiske prøver anbefales bruk av en ultrasentrifuge.

Hemolyserte prøver kan tyde på feilhåndtering av prøven før mottak på laboratoriet, og resultatet må derfor tolkes med forsiktighet.

Ikteriske eller svært kontaminerte prøver kan gi feil resultat.

Sentrifugering av serumprøver før de er helt koagulert, kan føre til at det finnes fibrin i prøvene. For å hindre uriktige resultater på grunn av tilstedeværelse av fibrin må det kontrolleres at prøven er helt koagulert før den sentrifugeres. Noen prøver, spesielt prøver fra pasienter som behandles med antikoagulantia, kan kreve lengre koaguleringsstid.

Rør for prøvetaking fra forskjellige produsenter kan gi avvikende resultater. Dette avhenger av materialer og tilsetningsstoffer, inkludert gel eller fysiske

barrierer, koagulasjonsaktivatorer og/eller antikoagulasjonsmidler. IMMULITE 2000 AFP er ikke blitt testet med alle mulige varianter av rørtyper.

Fostervann: Fostervannsprøve tas ved hjelp av amniocentese i rør uten tilsetning. Prøvene skal tas ved hjelp av aseptisk transabdominal amniocentese som utføres av en erfaren obstetriker i løpet av andre trimester av svangerskapet på kvinner med bekreftet gestasjonsalder. Sentrifuger prøven, og ta vare på en del av den klare supernatanten. Undersøk både supernatant og bunnfall for tegn på blod eller hemoglobin, ettersom kontaminering med selv spormengder av fostermateriale vil øke AFP-konsentrasjonen i prøven og dermed gjøre den uegnet til analysing. Fostermaterialets opprinnelse skal fastslås ved hjelp av en test for føtalt hemoglobin. Hvis det har oppstått føtal kontaminering og AFP-konsentrasjonen er forhøyet, må det tas en tilleggsprøve til evaluering 7–10 dager senere. Fostervannskontaminering med maternelt serum kan gi riktige AFP-nivåer forutsatt at kontamineringsgraden ikke er tilstrekkelig til å fortynne prøven. I dette pakningsvedlegget refererer *fostervann* heretter til den klare supernatanten som er fremskaffet ved sentrifugering av fostervannsprøven.

Tidspunkter: Det er helt nødvendig å kjenne gestasjonsalderen for å kunne evaluere AFP-resultatene. Anbefalt tidspunkt for prøvetaking er 16.–18. svangerskapsuke for serum, 16.–20. svangerskapsuke for fostervann. Serumprøver må tas før amniocentese fordi denne prosedyren kan føre til falskt forhøyede konsentrasjoner i maternelt serum i 2–3 uker.

Nødvendig volum

Serum: 10 µl

Fostervann: 10 µl med forfortynnet fostervannsprøve

Fortynningsfaktor for fostervann: 100
Alle fostervannsprøver skal først automatisk fortynnes 1:101 med Multi-fortynningsvæske 2 før analysing. Velg 100 i vinduet "Dilution Factor".

Oppbevaring

Serum: 3 dager ved 2–8°C. Fryses ned til –20°C hvis prøven ikke analyseres i løpet av 3 dager.

Fostervann: Fostervannsprøver skal oppbevares ved –20°C. Porsjoner prøvene for å unngå gjentatt frysing og tining. Prøven skal ha romtemperatur (15–28°C) før analysing, og bland *forsiktig* ved å snu opp og ned. Prøvene skal ikke tines ved oppvarming i vannbad. Hvis prøvene skal sendes i posten, må de pakkes på tørris hvis forsendelsestiden er over 72 timer, eller hvis det kan oppstå problemer med høye temperaturer, for eksempel i varmt klima eller om sommeren. Hvis det er behov for flere analyser, skal den opprinnelige prøvetype benyttes for å sikre konsistens i resultatene.

Advarsler og forholdsregler

Kun for diagnose *in vitro*.

Reagenser: Oppbevares ved 2–8°C. Destrueres i henhold til gjeldende lover og forskrifter.

Følg generelle forsiktighetsregler, og håndter alle komponenter som om de var smittefarlige. Kildemateriale fra humant blod er blitt testet og funnet negativt for syfilis, antistoffer mot HIV 1 og 2, hepatitt B-overflateantigen og antistoffer mot hepatitt C.

Natriumazid i konsentrasjoner under 0,1 g/dl er tilsatt som konserveringsmiddel. Ved avhending direkte i avløp, skyll med store mengder vann for å hindre utvikling av potensielt eksplosive metallazider i bly- og kobberberør.

Kjemiluminescent substrat: Unngå kontaminering og eksponering for direkte sollys (se pakningsvedlegg).

Vann: Bruk destillert eller deionisert vann.

Materiale som følger med

Komponentene i analysekitet er tilpasset hverandre. Etikettene på innsiden av esken er nødvendige for analysen.

AFP – kulepakning (L2AP12)

Med strekkode. 200 kuler som er dekket med murint monoklonalt anti-AFP. Stabil ved 2–8°C t.o.m. utløpsdatoen.

L2KAP2: 1 pakning **L2KAP6:** 3 pakninger

AFP – reagensbeholder (L2APA2)

Med strekkode. 11,5 ml av en proteinbuffer / ikke-human serumatriks og 11,5 ml alkalisk fosfatase (bovin kalvetarm) konjugert til polyklonalt kanin-anti-AFP i buffer. Stabil ved 2–8°C t.o.m. utløpsdatoen.

L2KAP2: 1 beholder

L2KAP6: 3 beholdere

Før bruk, riv av den øverste delen av etiketten ved perforeringen uten å skade strekkoden. Fjern folieforseglingen fra toppen av beholderen, dra glidehylsteret nedover og inn i sporene.

AFP-justerere (L2APJ3, L2APJ4)

To 2,0 ml flasker (lav og høy) AFP i en bovin serum-matriks. Stabil ved 2–8°C i 30 dager etter åpning, eller i 6 måneder (porsjonert) ved –20°C.

L2KAP2: 1 sett **L2KAP6:** 2 sett

Før justering settes de riktige etikettene (følger med kitet) på prøverørene, slik at strekkoden kan leses av strekkodeleseren.

Kitkomponenter som leveres separat

Multi-fortynningsvæske 2

(L2M2Z, L2M2Z4)

Til automatisk fortynning av høye serumprøver og til fostervannsprøver. En flaske konsentrert (bruksklar) matriks av ikke-human protein/buffer, tilsatt konserveringsmiddel. Stabil ved 2–8°C i 30 dager etter åpning, eller i 6 måneder (porsjonert) ved –20°C.

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

Strekkodeetiketter følger med for bruk sammen med fortynningsvæsken. Før bruk festes en etikett på reagensrøret (16 × 100 mm), slik at strekkoden kan leses av strekkodeleseren.

L2M2Z: 3 etiketter **L2M2Z4:** 5 etiketter

Analyse av fostervannsprøver krever en 1:101-fortynning av prøven (automatisk fortynning med Multi-fortynningsvæske 2).

L2SUBM: Kjemiluminescent substrat

L2PWSM: Vaskeløsning

L2KPM: Rengjøringskit for prober

LRXT: Reaksjonskopper (engangs)

L2ZT: 250 rør for prøvefortynning (16 × 100 mm)

L2ZC: 250 korker til rør for prøvefortynning

Også nødvendig

Destillert eller deionisert vann, prøverør, kontroller

Analyseprosedyre

For å oppnå optimal ytelse er det viktig å utføre alle rutinemessige vedlikeholdsprosedyrer som er angitt i brukermanualen for IMMULITE 2000 instrumentene.

Les i brukermanualen for IMMULITE 2000 instrumentene for å få informasjon om klargjøring, oppsett, fortynning, justering, analysing og kvalitetskontroll.

Anbefalt justeringsintervall: 4 uker

Kvalitetskontroll: Følg offentlige forskrifter eller akkrediteringskrav for kvalitetskontrollfrekvens.

Bruk kontroller eller samleserum med minst to nivåer (lavt og høyt) av AFP.

Siemens Healthcare Diagnostics anbefaler at det brukes kommersielt tilgjengelige kvalitetskontrollmaterialer med minst 2 nivåer (lavt og høyt). Et tilfredsstillende ytelsesnivå oppnås når analyttverdiene man får er innenfor det akseptable kontrollområdet for systemet, eller innenfor et fastsatt område som er bestemt med et passende internt kvalitetskontrollprogram i laboratoriet.

Forventede verdier

AFP-verdier hos pasienter med testikkelkreft

Basert på relasjonen til IMMULITE AFP (se Metodesammenligning), kan analysen forventes å ha stort sett samme referanseområde.

I en studie som omfattet to klinikker, ble 119 serumprøver fra menn med tilsynelatende god helse (medianalder: 61; midterste 95%: 27–79 år) analysert med IMMULITE AFP. Resultatene varierte fra 0,5 til 5,5 IU/ml, med en medianverdi på 1,6 IU/ml og en 99. persentil på 5 IU/ml.

Studien inkluderte menn med testikkelkreft; pasienter med andre maligne tilstander (i lever, blære, nyre, pankreas, lunger, prostata og colon), pasienter med ikke-maligne tilstander (for eksempel skrumplever, hepatitt B og C,

ulcerøs kolitt, emfysem, polypper i tarm og endetarm) og noen få kvinner med tilsynelatende god helse. Fordelingen av IMMULITE AFP-resultatene er oppgitt i tabellen nedenfor (med det samlede antall for hver enkelt gruppe i parentes)

IU/ml:	< 5	5–15	15–100	> 100
Menn				
Friske menn (119)	118	1	–	–
Seminomatøs testikkelkreft (6)	6	–	–	–
Ikke-seminomatøs testikkelkreft (60)	14	8	15	23
Leverkreft (10)	3	–	2	5
Andre maligne sykdommer (40)	36	1	–	3
Skrumplever (4)	3	1	–	–
Hepatitt (24)	19	4	1	–
Andre ikke-maligne sykdommer (6)	5	–	–	1
Kvinner				
Friske kvinner (29)	29	–	–	–
Maligne sykdommer (20)	18	–	1	1
Ikke-maligne sykdommer (16)	15	–	1	–

Disse grensene må anses som *veiledende*. Hvert laboratorium må etablere sine egne referanseområder.

Pasienter med ikke-seminomatøs testikkelkreft kan forventes å ha en fordeling av AFP-verdier både innenfor og utenfor referanseområdet for tilsynelatende friske, voksne menn. Rene seminomer gir ikke forhøyede AFP-verdier i serum. Det er imidlertid påvist forhøyede AFP-verdier hos pasienter med diagnostiserte seminomer sammen med metastaser av ikke-seminomatøs testikkelkreft.⁸

En betydelig økning av AFP-konsentrasjonen hos pasienter som vurderes fri for metastatisk tumor kan være en indikasjon på metastaseutvikling. Forhøyede verdier etter kirurgi kan tyde på ufullstendig fjerning av tumoren eller tilstedeværelse av metastaser.

Forhøyede verdier av serum-AFP knyttes opp mot benigne leversykdommer, for eksempel hepatitt og skrumplever. De fleste (95%) av pasientene med slike benigne sykdommer har AFP-nivåer som ligger under 200 ng/ml (165 IU/ml).⁸⁻¹⁵

AFP-verdier i maternelt serum og fostervann

På grunn av potensielle variasjoner i testingen ved ulike laboratorier, anbefales de enkelte testsenterne å etablere sine egne AFP-medianverdier for svangerskapsukene 15–20, målt i populasjonen som skal screenes. Cutoff-verdiene bruker vanligvis multipler av medianen (MoM, multiples of the medians) på 2,0 eller 2,5 ved testing av maternelt serum og fostervann. Hvert AFP-testresultat kan deretter uttrykkes som en multipl av medianverdien til den upåvirkede populasjonen. Dette gjøres ved å dividere AFP-verdien med medianverdien for den tilhørende svangerskapsuken. Svangerskapsuker er definert som fullførte svangerskapsuker; for eksempel vil 16 uker og 6 dager bli vurdert som 16. uke. Det anbefales at median- og MoM-verdier som etableres for hver svangerskapsuke, baseres på minst 100 prøver maternelt serum og 50 fostervannsprøver fra upåvirkede enkeltgraviteter med bekreftet gestasjonsalder.

Tabellene nedenfor inneholder medianverdier for prøver med *maternelt serum* som er beregnet med en vektet loglineær regresjon fra data innhentet fra upåvirkede enkeltsvangerskap fra tre klinikker i USA:

Svangerskaps-uke	Antall prøver	Median IU/ml*	Multipler av medianer* (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

*Ved regressionsanalyse

Tabellene nedenfor inneholder medianverdier for *fostervansprøver* som er beregnet med en vektet loglineær regresjon på data innhentet fra upåvirkede enkeltsvangerskap på to klinikker i USA:

Svangerskaps-uke	Antall prøver	Mediane kIU/ml*	Multipler av medianer* (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

*Ved regressionsanalyse

Begrensninger

Diagnose: Forekomsten av forhøyede AFP-konsentrasjoner ved andre sykdommer enn ikke-seminomatøs testikkelkreft utelukker bruk av AFP-målinger ved diagnostisering av ikke-seminomatøs testikkelkreft.

Screening: AFP-målinger anbefales ikke som screeningsmetode for påvisning av kreft i den generelle befolkningen. Det er ikke bare hos pasienter med ikke-seminomatøs testikkelkreft at forhøyede konsentrasjoner av AFP i serum sees, men også ved maligne sykdommer som hepatocellulært karcinom, eggstokkreft og gastrointestinal kreft og lungekreft. Benigne hepatiske tilstander som akutt viral hepatitt, kronisk aktiv hepatitt og skrumplever kan gi forhøyede konsentrasjoner av AFP i serum. Det er også påvist forhøyede AFP-konsentrasjoner ved svangerskap, ataxia telangiectasia og arvet tyrosinemi.

Prenatal Testing: En pålitelig AFP-vurdering for prenatal testing krever nøyaktig bestemmelse av

gestasjonsalderen. Hvis gestasjonsalderen er underberegnet, kan det føre til falske positive resultat, mens overberegning av gestasjonsalderen kan gi falske negative resultat. Når gestasjonsalderen er uvisst, må den bekreftes med ultralydundersøkelse.

Heterofile antistoffer i humant serum kan reagere med immunglobulinene i denne metoden, noe som forårsaker interferens med immunologiske analyser *in vitro*. [Se Boscatto LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34: 27-33.] Prøver fra pasienter som rutinemessig eksponeres for dyr eller dyreserumprodukter, kan vise denne typen interferens, som potensielt kan gi et anormalt resultat. Disse reagensene er satt sammen for å minimere risikoen for interferens, men potensielle interaksjoner kan i sjeldne tilfeller inntre mellom sera og bestanddeler i metoden. Til diagnostiske formål skal resultatene som oppnås med denne metoden, alltid brukes i kombinasjon med en klinisk undersøkelse, pasientens sykehistorie og andre funn.

Resultatdata

Se "Tables and Graphs" for data som er *representative* for metodens resultater. Resultatene er uttrykt i IU/ml. Med mindre annet er oppgitt, er alle data basert på serumprøver fra pasienter med testikkelkreft.

Omregningsfaktor:

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

Arbeidsområde: Opp til 300 IU/ml (363 ng/ml) (WHO 1st IS 72/225)

Analytisk sensitivitet: 0,2 IU/ml (0,24 ng/mL)

"Hookeffekt" ved høy dose: Ingen opp til 534 000 IU/ml

Presisjon: Sju prøver ble analysert i duplikater i løpet av 20 dager med to kjøringar om dagen, totalt 40 kjøringar og 80 replikater. (Se tabellen "Precision".)

Linearitet: Serum- og fostervannsprøver ble analysert i forskjellige fortyninger. (Se tabellen "Linearity" for representative data.)

Recovery: Serumprøver fortynnet 1:20 med tre AFP-løsninger (286, 700 og 1324 IU/ml). Fostervannsprøver fortynnet 1:20 med tre fostervannsprøver med høy konsentrasjon (10 000, 20 000 og 36 000 IU/ml). (Se tabellen "Recovery" for representative data.)

Spesifisitet: Analysen har høy spesifisitet for AFP. (Se tabellen "Specificity".)

Bilirubin (ukonjugert): Basert på analysens forhold til IMMULITE AFP, har bilirubin en liten, men (ved t-test) statistisk signifikant effekt. (Se tabellen "Bilirubin" for IMMULITE AFP-studien.)

Hemolyse: Hemoglobin i konsentrasjoner på opptil 192 mg/dl har ingen innvirkning på resultatene innenfor systemets presisjon.

Lipemi: Triglycerider i konsentrasjoner på opptil 3000 mg/dl har ingen innvirkning på resultatene innenfor systemets presisjon.

Metodesammenligning –

testikkelkreftstudier: Analysen ble sammenlignet med IMMULITE AFP på totalt 205 prøver fra mannlige pasienter i ulike kliniske faser, pre- og post-kirurgi, **ved ikke-seminomatøs testikkelkreft.** (Konsentrasjonsområde: ca 0,3–280 IU/ml.) Ved lineær regresjon:

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

95% Konfidensintervall (KI)	Helning	Skjærings- punkt
Nedre	1,03	-0,51
Øvre	1,05	1,20

Metodesammenligning – Studier på

neuralrørsdefekter: Ved to separate kliniske studier som er utført i USA, ble IMMULITE 2000 AFP-resultater sammenlignet med to kommersielle analysemetoder (Kit A og Kit B). Sammenligningen er gjort ved lineær regresjon på prøver med **maternelt serum** i intervallet- under deteksjonsgrensen til 300 IU/ml. Ved lineær regresjon:

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

95% Konfidensintervall (KI)	Helning	Skjærings- punkt
Nedre	0,89	0,94
Øvre	0,93	2,68

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

95% Konfidensintervall (KI)	Helning	Skjærings- punkt
Nedre	0,72	4,66
Øvre	0,74	5,79

I én av de ovennevnte studiene ble IMMULITE 2000 AFP-resultatene sammenlignet med Kit B i en lineær regresjon på prøver med **fostervann** i intervallet- ikke påvisbart til 286 kIU/ml*.

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

95% Konfidensintervall (KI)	Helning	Skjæringspunkt
Nedre	0,77	1,78
Øvre	0,81	2,76

*Fostervannsprøvene ble automatisk fortynnet 1:101 med IMMULITE 2000.

Analysen ble også sammenlignet med IMMULITE AFP på **fostervannsprøver** i intervallet ca 3–20 kIU/ml*. (Se graf.) Ved lineær regresjon:

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

Middelverdi:
 10,0 kIU/ml (IMMULITE)
 10,8 kIU/ml (IMMULITE 2000)

95% Konfidensintervall (KI)	Helning	Skjærings- punkt
Nedre	0,93	-0,50
Øvre	1,12	1,54

*Fostervannsprøvene ble automatisk fortynnet 1:101 av IMMULITE 2000.

Analysen ble også sammenlignet med IMMULITE AFP for **maternelt serum** i intervallet ca 10–120 IU/ml*. Ved lineær regresjon:

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

Middelverdi:
 33,8 IU/ml (IMMULITE)
 34,3 IU/ml (IMMULITE 2000)

95% Konfidensintervall (KI)	Helning	Skjærings- punkt
Nedre	0,99	-0,60
Øvre	1,03	0,91

Klinisk sensitivitet for maternelt serum, n = 9:

Svanger- skapsuke	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15–20	100%	77,8%	66,7%
95% KI for alle prøver	66,4–100%	40,0– 97,2%	29,9– 92,5%

Klinisk spesifisitet for maternelt serum:

Svanger- skapsuke	n	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	276	94,2%	97,5%	98,6%
16	304	96,1%	99,0%	99,7%
17	272	97,1%	99,3%	99,6%
18	287	95,8%	98,6%	99,3%
19	152	93,4%	98,0%	99,3%
20	41	95,1%	100%	100%
15–20	1332	95,5%	98,6%	99,3%
95% KI for alle prøver		94,2%– 96,5%	97,8%– 99,1%	98,7%– 99,7%

Klinisk sensitivitet for fostervann, n = 8:

Svanger- skapsuke	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15–20	87,5%	87,5%	87,5%
95% CI for alle prøver	47,3%– 99,7%	47,3%– 99,7%	47,3%– 99,7%

Klinisk spesifisitet for fostervann:

Svanger- skapsuke	n	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	53	100%	100%	100%
16	50	98,0%	100%	100%
17	28	100%	100%	100%
18	20	100%	100%	100%
19	13	92,3%	100%	100%
20	10	100%	100%	100%
15–20	174	98,9%	100%	100%
95% KI for alle prøver		95,9%– 99,9%	97,9%– 100%	97,9%– 100%

Teknisk support

For kundestøtte, vennligst ta kontakt med lokal teknisk service eller din forhandler.

www.siemens.com/diagnostics

Produsert av Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. under kvalitetssystemet ISO 13485:2003.

Svenska

IMMULITE 2000 AFP

Avsedd användning: För *in vitro* diagnostisk användning med IMMULITE 2000-systemen — för kvantitativ mätning av alfafetoprotein (AFP) i endera av följande sammanhang: (a) seriella mätningar i humant serum som hjälp vid behandling av patienter med nonseminomatös testikelcancer; (b) mätningar i moderns serum eller fostervatten under 15:e till 20:e graviditetsveckan — tillsammans med ultrasonografi och amniografi — som hjälp för att upptäcka missbildningar i neuralkanalens tillslutning hos fostret.

Katalognummer: **L2KAP2** (200 tester)
L2KAP6 (600 tester)

Testkod: **AF** Färg: **Ljusgrå**

Koncentrationen av AFP i ett givet prov som fastställs med metoder från olika tillverkare kan variera på grund av olikheter i metoder och reagensspecificitet. **Resultat som rapporteras av laboratoriet till läkaren måste inkludera vilken metod som används. Värden som erhålls från olika AFP-metoder kan inte användas i jämförelse med varandra.** Innan laboratoriet byter analysmetod måste man: (a) för cancerkontroll — bekräfta basallinjvärden för patienter som kontrolleras seriellt; (b) för prenatala tester — fastställa ett intervall för normalvärden för den nya analysmetoden utifrån serum och fostervatten från kvinnor med bekräftad graviditetstidslängd.

Sammanfattning och förklaring

Alfafetoprotein (AFP) är ett enkelkedjigt glykoprotein med en molekylär massa av ca 70 000 dalton. AFP delar avsevärd sekvenshomologi med albumin, och produceras i fostret primärt av cellerna i gulsäcken, mag-tarmkanalen och levern. AFP uppträder som ett viktigt serumprotein hos fostret, men koncentrationen minskar snabbt efter födelsen.^{1,2,3} Återuppträdandet av en förhöjd AFP-koncentration i serumet på en vuxen har observerats inte bara under graviditet, men också i samband med flera godartade och maligna sjukdomar.

Testikelcancer

Förhöjda nivåer av AFP har observerats inte bara hos personer med nonseminomatös testikelcancer, men också hos patienter med andra maligniteter som hepato-cellulärt carcinom, äggstockscancer, gastrointestinal cancer och lungcancer.⁸⁻¹⁵ Serum-AFP är ofta förhöjt vid godartade leverbesvär, såsom akut viral hepatit, kronisk aktiv hepatit och cirros. Vid tillstånd som graviditet, ataxi telangiectasi och ärftlig tyrosinemi har också förhöjda koncentrationer av AFP uppmätts.⁸⁻¹⁵

Vid seminom, i dess rena form, uppmätts inte förhöjda koncentrationer av AFP. Förhöjda nivåer av serum-AFP har observerats hos patienter som diagnosticerats för seminomatös

testikelcancer åtföljd av nonseminomatösa metastaser.^{9,16,18,19} Under kemoterapi har patienter med långt framskridet seminom och leverdysfunktion förhöjda AFP-koncentrationer.²⁰ Tolkningen av förhöjda AFP-koncentrationer hos patienter med seminom kräver speciella överväganden och skulle kunna hjälpa kliniken i val av lämplig behandling.^{8,15,21}

Den kliniska användbarheten av AFP-mätning som en hjälp vid behandling av patienter med nonseminomatös testikelcancer är väldokumenterad.^{9,16,17,18,22} AFP-mätningar har även fått klinisk användning som en hjälp vid bedömning av omfattningen av sjukdomen.^{18,22-26}

Löpande mätningar av serum-AFP har visat sig återspegla effektiviteten av terapeutiska behandlingar hos patienter med nonseminomatösa testikeltumörer.^{9,15,17,26,27} Bestämning av AFP efter kirurgiska ingrepp är särskilt värdefull. Förekomst av en kvarvarande tumör kan starkt misstänkas om AFP-koncentrationerna efter operation inte går ned till de normala.^{9,15,28,29} En omsorgsfull bedömning av ändrade AFP-koncentrationer efter kirurgi kräver att man tar hänsyn till den metaboliska nedbrytningshastigheten.^{21,22,24,25} Vid användandet av AFP för att följa terapi eller sjukdomsåterkomst under kemoterapi, bör det noteras att nivåerna ofta faller snabbt under kemoterapi, och når normala nivåer trots att det fortfarande finns tumörmassa kvar.^{17,21} Vid dessa tillfällen har rekommendationerna varit att fullfölja den planerade terapin.²¹

Efter behandling eller operation, har löpande mätningar av AFP visat sig vara kliniskt användbara vid kontroll av utveckling eller återkomst av sjukdom hos patienter med nonseminomatös testikelcancer. Det har rapporterats att AFP-nivåer ofta stiger under sjukdomsutveckling och faller under sjukdomsförbättring.^{9,17,18} Förhöjda AFP-nivåer har ofta observerats följa tumöra återkomst innan sjukdomsutveckling är kliniskt synbar.^{9,18}

Missbildningar i neuralkanalens tillslutning hos foster

AFP kan detekteras inte bara i fostrets serum utan även i fostervattnet och moderns serum. Koncentrationsgradienten

är sådan att när AFP-nivå i fostrets serum är 2000 kIU/mL är AFP-nivån i fostervattnet (AFAFP-nivån) 20 kIU/mL och AFP-nivån i moderns serum (MSAFP-nivån) är 0,02 kIU/mL. Vid normal graviditet når AFP-koncentrationen i fostrets serum en toppnivå vid 14:e graviditetsveckan.³⁴ AFAFP-koncentrationen når toppnivån omkring 12:e veckan och MSAFP når toppnivån omkring 28:e – 32:a graviditetsveckan.³⁶ Nedgången i AFAFP-koncentration reflekterar nedgången i AFP-koncentrationen i fostrets serum, vilket är ett resultat av större foster och vätskevolym.³⁴ Förhöjda MSAFP- och AFAFP-nivåer förekommer oftast på grund av multipelgraviditet eller felaktig beräkning av graviditetslängd.

Det är kliniskt värdefullt att mäta AFP-koncentrationer när man screenar för missbildningar i neuralkanalens tillslutning och andra fosterdefekter.³⁵ Graviditeter med sådana missbildningar har förhöjda AFP-nivåer. Överskotts-AFP går ut i fostervattnet, och i mindre omfattning i moderns serum, genom transudation via fostrets exponerade ytor eller genom skadade glomeruli.^{35,37} Dessa tillstånd förekommer vid missbildningar i neuralkanalens tillslutning, inklusive öppen spina bifida, anencefali, omfalocel och kongenital nefros.^{32,38} Andra orsaker till förhöjd AFP-koncentration inkluderar orsaker både hos moder och foster: förestående spontanabort, fosterskador eller -död, oligohydramnios, toxemi, gastroschis, Meckels syndrom, sakroccocygealt teratom, Turners syndrom och hepatiska och onkologiska sjukdomar hos modern.³⁵

Rekommenderade förfaringssätt vid screening för missbildningar i neuralkanalens tillslutning finns utgivna.^{33,35} Brytpunktsnivåer för moderns serum och fostervatten kan väljas för att optimera behoven för den population som testas, utifrån prevalensen av missbildningar i neuralkanalens tillslutning. Brytpunkter utnyttjar vanligen multiplar av medianen på 2,0 eller 2,5 för MSAFP- och AFAFP-tester. Bästa tidpunkten för att screena MSAFP är mellan 16:e och 18:e graviditetsveckan, även om screening är effektivt även före och efter den perioden. För att utesluta att förhöjda AFP-

koncentrationer beror på en tillfällig ökning kan man ta och analysera flera prover.

Vanligare är att man använder ultrasonografi för att utesluta fler än ett foster och för att bekräfta graviditetslängden. Via ultrasonografi kan man också se tecken på missbildningar i neuralkanalens tillslutning, framför allt anencefali, vilket är en stor, tydlig lesion. Om AFP-koncentrationen, trots korrigerig för graviditetslängd eller multipelgraviditet, inte hamnar inom normalintervallet bör diagnostisk ultrasonografi och/eller fostervattensprov genomföras. Den bästa diagnosen kan åstadkommas genom att kombinera en biokemisk analys av fostervattnet med ultrasonografi om MSAFP-screeningen visar sig positiv.³⁵

Förhöjda MSAFP-resultat är inte diagnoser för missbildningar i neuralkanalens tillslutning och ska inte anses vara orsak till att avbryta graviditeten. Fördelningarna av AFP-koncentrationer från graviditeter med och utan missbildningar i neuralkanalens tillslutning överlappar varandra. Dolda missbildningar i neuralkanalens tillslutning resulterar till exempel inte i förhöjda MSAFP- och AFAFP-koncentrationer. Därför krävs vidare tester för att fastslå fostrets tillstånd. Med tanke på detta och de många orsakerna till förhöjda AFP-koncentrationer bör all klinisk information utvärderas och bekräftande tester om möjligt genomföras innan man ställer en diagnos.

AFP kan mätas genom flera immunologiska tekniker beroende på vilken känslighet man strävar efter. Radiell immunodiffusion, motströmsimmunoelktrofores och raketimmunoelktrofores är tre tekniker som är väl lämpade för forskningssyfte. Både kompetitiva och icke-kompetitiva "enzyme-linked immunosorbent assays" och radioimmunometoder har framgångsrikt använts kliniskt för mätningar i både serum från modern och i fostervatten.

OBS! IMMULITE 2000 AFP Läkarbroschyr (Kat. #ZS1105) och Patientbroschyr (Kat. #ZS1106) förklarar hur prenatala AFP-tester används som hjälp för att detektera missbildningar i neuralkanalens tillslutning hos foster. De finns att tillgå från din nationella leverantör.

Princip

IMMULITE/IMMULITE 1000 AFP är en kemiluminiscent, immunometrisk analys med dubbel bindning på fast fas.

Inkubationscykler: 2 × 30 minuter

Provtagning

Serum: Ta blod genom venpunktion³¹ och fyll i provrör (utan antikoagulationsmedel), och separera serumet från cellerna så snart som möjligt. Prover måste tas före amniocentes för att de ska ge rätt utslag.

Användning av ultracentrifug rekommenderas för att klarna lipemiska prover.

Hemolyserade prover kan tyda på dålig behandling av proverna innan de nått laboratoriet, därför ska resultaten tolkas med försiktighet.

Ikteriska eller kraftigt kontaminerade prover kan ge felaktiga resultat.

Centrifugering av prover före fullständig koagulering kan orsaka fibrinförekomst. För att undvika felaktiga resultat på grund av fibrinförekomst, försäkra dig om att fullständig koagulering har skett innan centrifugering av prover sker. Vissa prover, särskilt de som kommer från patienter med antikoaguleringsbehandling, kan kräva längre koaguleringsstid.

Rör för provtagning från olika tillverkare kan ge olika värden beroende på material och tillsatser, inklusive gel- och fysiska barriärer, koagulationsaktiverare och/eller antikoagulationsmedel. IMMULITE 2000 AFP har inte testats med alla möjliga varianter på rörsorter.

Fostervatten: Ta fostervatten genom amniocentes i rör utan tillsats. Prover ska tas genom aseptisk amniocentes genom bukväggen av en erfaren obstetriker under graviditetens andra trimester hos kvinnor med bekräftad graviditetslängd. Centrifugera provet och behåll en del av den klara supernatanten. Inspektera både supernatant och sediment efter spår av blod eller hemoglobin, eftersom kontaminering av även spår av fostermaterial kommer att höja provets uppmätta AFP-koncentration och göra det olämpligt för analys. Fostermaterialets ursprung bör fastställas genom ett test för fostrets hemoglobin. Om provet kontaminerats av fostret och AFP-

koncentrationen är förhöjd ska ytterligare ett prov för utvärdering göras 7 till 10 dagar senare. Fostervatten som kontaminerats av moderns serum kan korrekt spegla AFP-nivån, förutsatt att kontamineringsgraden inte är hög nog för att späda ut provet. I den här instruktionen avser hädanefter *fostervatten* den klara supernatant som man får genom att centrifugera fostervatten.

Tidpunkt: Det är väsentligt att känna till graviditetslängden för att kunna utvärdera AFP-resultaten. Den rekommenderade tidpunkten för provtagning är under 16:e till 18:e veckan för serum, 16:e till 20:e veckan för fostervatten. Serumprover måste tas före amniocentes eftersom detta prov annars kan leda till tillfälligt höjda serumnivåer hos modern under 2 till 3 veckor.

Erforderlig volym:

Serum: 10 µL

Fostervatten: 10 µL av förspädd fostervattensprov

Spädningsfaktor för fostervatten: 100
Alla fostervattensprover måste först automatiskt spädas 1:101 med Multi-spädningsvätska 2 innan de analyseras. Markera 100 i fönstret "Dilution Factor".

Förvaring

Serum: 3 dagar vid 2–8°C. Frys ned till –20°C om inte analysen utförts inom 3 dagar.

Fostervatten: Fostervattensprover bör förvaras vid –20°C. Om det behövs, portionera för att undvika upprepade upptining och nedfrysning. Låt proverna anta rumstemperatur (15–28°C) före analysen och blanda sedan genom *försiktig* vippning eller vändning. Försök *inte* tina upp prover genom att värma upp dem i vattenbad. Om proverna ska skickas ska de förpackas med kolsyres om transporttiden överstiger 72 timmar, eller om det kan uppstå problem med för höga temperaturer, till exempel i varmt klimat eller under sommaren. Om det är nödvändigt med upprepade analys ska den ursprungliga sorten prov tas för att bibehålla konsekvensen i resultaten.

Varningar och försiktighetsåtgärder

För *in vitro* diagnostisk användning.

Reagenser: Förvara vid 2–8°C. Kassera i enlighet med gällande lagar.

Följ allmänna försiktighetsåtgärder, och hantera alla komponenter som potentiellt smittobärande. Källmaterial från humant blod testades och var icke-reaktivt för syfilis, för antikroppar mot HIV 1 och 2, för hepatit B ytantigen och för antikroppar mot hepatit C.

Natriumazid, med en koncentration mindre än 0,1 g/dL, är tillsatt som konserveringsmedel. Vid kassering, spola stora mängder vatten för att undvika bildande av potentiellt explosiva metallazider i bly- och kopparrörledningar.

Kemiluminescenssubstrat: Undvik kontaminering och exponering för direkt solljus (se instruktion).

Vatten: Använd destillerat eller avjoniserat vatten.

Medföljande material

Komponenterna består av en matchande uppsättning. Etiketten på insidan av lådan behövs för metoden.

AFP kulkassett (L2AP12)

Med streckkod. 200 kulor, coatade med monoklonalt mus-anti-AFP. Stabil vid 2–8°C t o m utgångsdatum.

L2KAP2: 1 kassett **L2KAP6:** 3 kassetter

AFP Reagensförpackning (L2APA2)

Med streckkod. 11,5 mL proteinbuffert/icke-human serum matrix, och 11,5 mL alkaliskt fosfatas (bovin kalvtarm) konjugerat till polyklont kanin-anti-AFP i buffert. Stabil vid 2–8°C t o m utgångsdatum.

L2KAP2: 1 förpackning

L2KAP6: 3 förpackningar

Före användning, dra av tejen som säkrar glidlocket. Ta bort folieförslutningen på översidan av förpackningen, och tryck fast glidlocket på reagenslockets ramper.

AFP-justerare (L2APJ3, L2APJ4)

Två flaskor (låg och hög), 2,0 mL vardera, med AFP i en bovin serummatrix. Stabil vid 2–8°C i 30 dagar efter öppnande eller i 6 månader (portionerad) vid –20°C.

L2KAP2: 1 uppsättning

L2KAP6: 2 uppsättningar

Innan utförande av en justering, placera rätt etikett (medföljer i kitet) på respektive rör så att streckkoderna kan avläsas i streckkodsläsaren.

Kitkomponenter som levereras separat

Multi-spädningsvätska 2

(L2M2Z, L2M2Z4)

För automatisk spädning av höga serumprover och för fostervattensprover. En flaska av koncentrerad (färdig att använda), icke-human protein/buffert matrix med konserveringsmedel. Stabil vid 2–8°C i 30 dagar efter öppnande, eller i 6 månader (portionerad) vid –20°C.

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

Streckkodsetiketter medföljer för användning till spädningsvätskan. Före användning, placera korrekt etikett på ett 16 × 100 mm-rör, så att streckkoden kan läsas av streckkodsläsaren.

L2M2Z: 3 etiketter **L2M2Z4:** 5 etiketter

Fostervattensanalys kräver en 1:101-spädning av provet (automatisk spädning med Multi-spädningsvätska 2).

L2SUBM: Kemiluminescenssubstrat

L2PWSM: Tvättlösning

L2KPM: Rengöringskit

LRXT: Reaktionsrör (engångs)

L2ZT: 250 Spädningsvätskerör (16 × 100 mm)

L2ZC: 250 Lock till spädningsvätskerören

Även nödvändigt destillerat eller avjoniserat vatten, provrör, kontroller

Metodutförande

Observera att för att uppnå optimalt resultat är det viktigt att utföra allt rutinunderhåll enligt beskrivning i IMMULITE 2000-systemens operatörsmanual.

Se IMMULITE 2000-systemens operatörsmanual för: förberedelser, iordningställande, spädningar, justeringar, tillvägagångssätt för metod- och kvalitetskontroller.

Rekommenderat justeringsintervall:

4 veckor

Kvalitetskontroller: Följ statliga bestämmelser eller myndighetskrav för kvalitetskontrollfrekvens.

Använd kontroller eller serumpooler med minst två nivåer (hög och låg) av AFP.

Siemens Healthcare Diagnostics rekommenderar användning av kommersiellt tillgängligt kvalitetskontrollmaterial med minst två nivåer (låg och hög). En tillfredsställande prestandanivå uppnås när de analytvärden som erhålls ligger inom systemets godtagbara kontrollnivå, eller inom ett etablerat intervall, vilket fastställts av ett lämpligt internt laboratoriekvalitetskontrollschema.

Förväntade värden

AFP-värden hos patienter med testikelcancer

Baserat på relationen till IMMULITE AFP (se Metodjämförelse), kan metoden förväntas ha i huvudsak samma referensintervaller.

I en studie omfattande två kliniker, togs serumprover från 119 män med synbarligen god hälsa (medianålder: 61, och 95 % var i åldersintervallet 27 till 79 år) och analyserades med IMMULITE AFP-metoden. Resultaten sträckte sig från 0,5 till 5,5 IU/mL, med en median på 1,6 IU/mL och en 99:e percentil på 5 IU/mL.

Studien omfattade också män med testikelcancer, patienter med andra maligna sjukdomar (i lever, blåsa, njure, bukspottkörtel, lungor, prostata och tjocktarm), patienter med icke-maligna sjukdomar (som cirros, hepatit B och C, ulcerös colit, emfysem, tjocktarms- och ändtarmspolyper), och några kvinnor med synbarligen god hälsa. Fördelningen av IMMULITE AFP-resultat finns i tabellen nedan (med totala antalet i varje grupp inom parentes).

IU/mL:	< 5	5–15	15–100	> 100
Män				
Friska män (119)				
	118	1	—	—
Seminomatös testikelcancer (6)				
	6	—	—	—
Nonseminomatös testikelcancer (60)				
	14	8	15	23
Levercancer (10)				
	3	—	2	5
Andra maligna sjukdomar (40)				
	36	1	—	3
Cirros (4)				
	3	1	—	—
Hepatit (24)				
	19	4	1	—
Andra icke-maligna sjukdomar (6)				
	5	—	—	1
Kvinnor				
Friska kvinnor (29)				
	29	—	—	—
Maligna sjukdomar (20)				
	18	—	1	1
Icke-maligna sjukdomar (16)				
	15	—	1	—

Betrakta dessa gränser enbart som *riktlinjer*. Varje laboratorium ska fastställa sina egna referensintervall.

Patienter med nonseminomatös testikelcancer kan förväntas ha en fördelning av AFP-värden både inom och utanför referensintervallet för synbarligen friska, vuxna män. För patienter med seminom, i dess rena form, är AFP-nivån ej förhöjd. Däremot har förhöjda AFP-nivåer observerats hos patienter som diagnostiserats för seminom följt av metastaser från nonseminomatös testikelcancer.⁸

En avsevärd höjning av AFP-nivåer hos patienter som anses fria från metastaser kan tyda på att metastaser är på väg att utvecklas. Förhöjda nivåer efter operationer kan tyda på ofullständigt borttagande av tumören eller förekomst av metastaser.

Förhöjda nivåer av serum-AFP är relaterade till godartade leveråkommor som hepatit och cirros. De flesta (95%) av patienterna med dessa godartade sjukdomar har AFP-nivåer som är lägre än 200 ng/mL (165 IU/mL).⁸⁻¹⁵

AFP-värden i fostervatten och moderns serum

Eftersom det finns en potentiell skillnad i tester på olika laboratorier, rekommenderas det att varje testställe fastslår sina egna medianvärden för AFP för graviditetsveckorna 15 till 20, uppmätt i den population som ska testas. Brytpunkter utnyttjar vanligen multiplar av medianerna (MoM) på 2,0 eller 2,5 för tester av fostervatten eller moderns serum. Varje AFP-testresultat kan sedan uttryckas som en multipel av medianen för den opåverkade populationen. Detta åstadkoms genom att dividera AFP-värdet med medianen för motsvarande graviditetsvecka. Graviditetsveckor definieras som helt genomgångna graviditetsveckor. 16 veckor och 6 dagar räknas alltså som 16:e veckan. Det har rekommenderats att median- och MoM-värden som bestäms för varje graviditetsvecka baseras på åtminstone 100 serumprover och 50 fostervattensprover från opåverkade enkelgraviteter med fastställd graviditetslängd.

Nedan återfinns medianer för *serumprover från mödrar*, beräknade med viktad log-linjär regression från data insamlade från opåverkade enkelgraviteter vid tre kliniker i USA:

Graviditets-vecka	Antal prover	Median IU/mL*	Multiplar av medianer* (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

* Via regressionsanalys

Nedan återfinns medianer för *fostervattensprover*, beräknade med viktad log-linjär regression från data insamlade från opåverkade enkelgraviteter vid två kliniker i USA:

Graviditets-vecka	Antal prover	Median kIU/mL*	Multiplar av medianer* (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

* Via regressionsanalys

Begränsningar

Diagnos: Förekomsten av förhöjda nivåer av serum-AFP i sjukdomar förutom nonseminomatös testikelcancer, utesluter användning av AFP-mätningar i diagnos av nonseminomatös testikelcancer.

Screening: AFP-mätningar kan inte rekommenderas som en screeningmetod för att upptäcka cancer i befolkningen i allmänhet. Förhöjda nivåer av serum-AFP har observerats inte bara hos patienter med nonseminomatös testikelcancer, utan också vid maligna sjukdomar som hepatocellulärt carcinom, äggstockscancer, gastrointestinal cancer och lungcancer. I samband med godartade leversjukdomar som akut viral hepatit, kronisk aktiv hepatit och cirros kan patienten ha förhöjda koncentrationer av serum-AFP. Förhöjda AFP-koncentrationer har också observerats vid graviditet, ataxi telangiectasi och ärftlig tyrosinemi.

Prenatala tester: En pålitlig AFP-utvärdering av prenatala tester kräver noggrann bestämning av graviditetslängden. För låg skattning av graviditetslängden kan leda till falska positiva resultat, och för hög skattning kan leda till falska negativa resultat. Om graviditetslängden är osäker bör den fastslås med ultrasonografi.

Heterofila antikroppar i humant serum kan reagera med immunglobulin i reagenset, vilket orsakar interferens i *in vitro* immunoanalyser. [Se Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34: 27-33.] I prover från patienter som rutinmässigt exponeras för djur eller djurserum kan denna typ av interferens uppträda, vilket potentiellt kan leda till onormala resultat. Dessa reagenser har

anpassats för att minimera risken för interferenser, potentiell samverkan kan dock ske mellan ovanliga serum och reagenskomponenter. För diagnostisk användning ska resultaten från denna metod alltid användas i kombination med kliniska undersökningar, patientens sjukdomshistorik och andra fynd.

Resultatdata

Se Tabeller och grafer för data som är *representativa* för metodens resultat. Resultaten uttrycks i IU/mL. Såvida inte annat anges, baseras allt på serumprover som togs från patienter med testikelcancer.

Konverteringsfaktor:

IU/mL \times 1,21 \rightarrow ng/mL

Kalibreringsområde: upp till 300 IU/mL (363 ng/mL) (WHO 1st IS 72/225)

Analytisk sensitivitet: 0,2 IU/mL (0,24 ng/mL)

Högdos hook-effekt: Ingen effekt upp till 534 000 IU/mL

Precision: Sju prover bearbetades i duplikat under en period av 20 dagar, två körningar per dag, för totalt 40 körningar och 80 replikat. (Se tabellen "Precision".)

Linearitet: Serum- och fostervattensproverna analyserades med olika spädnings. (Se tabellen "Linearity" för representativa data.)

Utbyte: Serumprover spädda 1:20 med tre AFP-lösningar (286, 700 och 1324 IU/mL) analyserades. Fostervattensprover spädda 1:20 med tre höga fostervattensprover (10 000, 20 000 och 36 000 IU/mL) analyserades också. (Se tabellerna "Recovery" för representativa data.)

Specificitet: Metoden är synnerligen specifik för AFP. (Se tabellen "Specificity".)

Bilirubin (okonjugerat): Baserat på metodens förhållande till IMMULITE AFP, har bilirubin en liten men (med *t*-test) statistiskt signifikant effekt. (Se tabellen "Bilirubin" för IMMULITE AFP-studien.)

Hemolys: Förekomst av hemoglobin i koncentrationer upp till 192 mg/dL har ingen effekt på resultaten, inom precisionen för metoden.

Lipemi: Förekomst av lipemi i koncentrationer upp till 3000 mg/dL har ingen effekt på resultaten, inom precisionen för metoden.

Metodjämförelse –

Testikelcancerstudier Metoden jämfördes med IMMULITE AFP på totalt 205 prover från manliga patienter i olika kliniska stadier, före och efter operation, **med nonseminomatös testikelcancer.** (Koncentrationsintervall: ca 0,3–280 IU/mL.) Genom linjär regression:

$$(IML\ 2000) = 1,04 (IML) + 0,34\ IU/mL$$

$$r = 0,998$$

$$n = 205$$

95% konfidensintervall (KI):	Lutning	Skärm.punkt
Lägre	1,03	-0,51
Övre	1,05	1,20

Metodjämförelse – Studier av missbildningar i neuralkanalen Vid två skilda kliniska studier utförda i USA jämfördes resultat från IMMULITE 2000 AFP med två på marknaden tillgängliga metoder (Kit A och Kit B). Jämförelsen skedde genom linjär regression av **serumprover från mödrar**, i intervallet ej påvisbart till 300 IU/mL. Genom linjär regression:

$$(IML\ 2000) = 0,91 (Kit\ A) + 1,81\ IU/mL$$

$$r = 0,98$$

$$n = 346$$

95% konfidensintervall (KI):	Lutning	Skärm.punkt
Lägre	0,89	0,94
Övre	0,93	2,68

$$(IML\ 2000) = 0,73 (Kit\ B) + 5,22\ IU/mL$$

$$r = 0,97$$

$$n = 1015$$

95% konfidensintervall (KI):	Lutning	Skärm.punkt
Lägre	0,72	4,66
Övre	0,74	5,79

I en av studierna ovan jämfördes resultat från IMMULITE 2000 AFP med Kit B genom linjär regression av **fostervattensprover** i intervallet ej påvisbart till 286 kIU/mL.*

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

95% konfidensintervall (KI):	Lutning	Skärn.punkt
Lägre	0,77	1,78
Övre	0,81	2,76

* Fostervattensproverna späddes automatiskt 1:101 med IMMULITE 2000.

Metoden jämfördes även med IMMULITE AFP på **fostervattensprover** i intervallet ca 3 till 20 kIU/mL.* (Se graf.)
Genom linjär regression:

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

10,0 kIU/mL (IMMULITE)
10,8 kIU/mL (IMMULITE 2000)

95% konfidensintervall (KI):	Lutning	Skärn.punkt
Lägre	0,93	-0,50
Övre	1,12	1,54

* Fostervattensproverna späddes automatiskt 1:101 med IMMULITE 2000.

Metoden jämfördes även med IMMULITE AFP på **serumprover från mödrar** i intervallet ca 10 till 120 IU/mL.
Genom linjär regression:

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

Medelvärden:
33,8 IU/mL (IMMULITE)
34,3 IU/mL (IMMULITE 2000)

95% konfidensintervall (KI):	Lutning	Skärn.punkt
Lägre	0,99	-0,60
Övre	1,03	0,91

Klinisk sensitivitet för serum från modern, n = 9:

Graviditets- vecka	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15–20	100%	77,8%	66,7%
95% KI för alla prover	66,4%– 100%	40,0%– 97,2%	29,9%– 92,5%

Klinisk specificitet för serum från modern:

Gravidit ets- vecka	n	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	276	94,2%	97,5%	98,6%
16	304	96,1%	99,0%	99,7%
17	272	97,1%	99,3%	99,6%
18	287	95,8%	98,6%	99,3%
19	152	93,4%	98,0%	99,3%
20	41	95,1%	100%	100%
15–20	1332	95,5%	98,6%	99,3%
95% KI för alla prover		94,2%– 96,5%	97,8%– 99,1%	98,7%– 99,7%

Klinisk sensitivitet för fostervatten, n = 8:

Graviditets- vecka	% > 2,0 MoM	% > 2,5 MoM	% > 3,0 MoM
15–20	87,5%	87,5%	87,5%
95% KI för alla prover	47,3%– 99,7%	47,3%– 99,7%	47,3%– 99,7%

Klinisk specificitet för fostervatten:

Gravidit ets- vecka	n	% ≤ 2,0 MoM	% ≤ 2,5 MoM	% ≤ 3,0 MoM
15	53	100%	100%	100%
16	50	98,0%	100%	100%
17	28	100%	100%	100%
18	20	100%	100%	100%
19	13	92,3%	100%	100%
20	10	100%	100%	100%
15–20	174	98,9%	100%	100%
95% KI för alla prover		95,9%– 99,9%	97,9%– 100%	97,9%– 100%

Teknisk hjälp

Utanför Sverige, kontakta din nationella distributör.

www.siemens.com/diagnostics

Kvalitetssystemet för Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. är certifierat enligt ISO 13485:2003.

IMMULITE is a trademark of Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2014 Siemens Healthcare Diagnostics. All rights reserved.

Origin: UK



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



0088

when used for Trisomy 21 testing
ved brug til Trisomy 21 testning
kasutatuna trisoomia 21
analüüsimiseks
lietojot 21. hromosomas trisomijas
testçðanai
kai naudojama trisomijos 21 tyrimui
når brukt til Trisomy 21-testing
når använd för trisomi 21-tester

2014-02-26

PINL2KAP – 7 {21}

Changes in this Edition:

cc#EU21742: Removed Siemens control (TMCO) from the *Kit Components Supplied Separately* section. Under *Quality Control Samples*, added information for quality control frequency, materials, and performance. Eliminated 3000-test size.

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	En English
Symbolforklaring	Da Dansk
Sümbolite seletus	Et Eesti
Simbolu skaidrojumi	Lv Latviski
Kaip suprasti simbolius	Lt Lietuviškai
Forklaring av symboler	No Norsk
Teckenförklaring	Sv Svenska

The following symbols may appear on the product labeling: / Følgende symboler kan forekomme på produktmærkningen: / Toote siltidel võivad olla järgmised sümbolid: / Uz produktu uzlīmēm var parādīties sekojoši simboli: / Produktų etiketėse gali pasitaikyti šie simboliai: / Følgende symboler kan stå på produktmerkingen: / Følgende symboler kan forekomme på produktetiketten:

Symbol Definition

En: *In vitro* diagnostic medical device
Da: Medicinsk udstyr til *in vitro*-diagnostik
Et: *In vitro* diagnostika meditsiiniline seade
Lv: Medicīniska iekārta *in vitro* diagnostikai
Lt: *In vitro* diagnostinis medicininis prietaisas
No: Medisinsk utstyr til *in vitro* diagnostisk
Sv: Medicinsk utrustning för *in vitro*-diagnostik



REF

En: Catalog Number
Da: Katalognummer
Et: Kataloogi number
Lv: Kataloga numurs
Lt: Katalogo numeris
No: Katalognummer
Sv: Katalognummer



En: Manufacturer
Da: Producent
Et: Tootja
Lv: Ražotājs
Lt: Gamintojas
No: Produsent
Sv: Tillverkare



Symbol Definition

En: Authorized Representative in the European Community
Da: Autoriseret repræsentant i EF
Et: Volitatud esindaja Euroopa Ühenduses
Lv: Autorizēts pārstāvis Eiropas Savienībā
Lt: Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje
No: Autorisert representant i EU
Sv: Auktoriserad representant inom europeiska gemenskapen



En: CE Mark
Da: CE-mærke
Et: CE märke
Lv: CE zīme
Lt: CE ženklas
No: CE-merke
Sv: CE-märke



En: CE Mark with identification number of notified body
Da: CE-mærke og identifikationsnummer for bemyndiget organ
Et: CE märke koos volitatud asutuse identifitseerimisnumbriga
Lv: CE zīme ar reģistrācijas organizācijas identifikācijas numuru
Lt: CE ženklas su notifikuotosios įstaigos identifikaciniu numeriu
No: CE-merke med ID-nummer for teknisk kontrollorgan
Sv: CE-märke med identifieringsnummer på tillståndsmyndighet



En: Consult instructions for use
Da: Se den medfølgende brugsanvisning
Et: Kasutamiseks tutvu juhendiga
Lv: Skatīt lietošanas instrukcijas
Lt: Vadovaukitės naudojimo instrukcijomis
No: Se bruksanvisningen
Sv: Läs igenom användarinstruktionerna



En: Caution! Potential Biohazard
Da: Advarsel! Potentiel biologisk smittefare
Et: Hoiatus! Võimalik bioloogiline oht
Lv: Uzmanību! Potenciāli bioloģiski bīstams
Lt: Atsargiai! Biologiškai pavojingos medžiagos
No: Forsiktig! Potensiell biologisk smittefare
Sv: Viktigt! Potentiell biologisk smittorisk



Symbol Definition

En: Temperature limitation (2–8°C)
Da: Temperaturbegrænsning (2–8°C)
Et: Temperatuuride vahemik (2–8°C)
Lv: Temperatūras diapazons (2–8°C)
Lt: Temperatūros ribos (2–8°C)
No: Temperaturgrense (2–8°C)
Sv: Förvaringstemperatur (2–8°C)



En: Upper limit of temperature ($\leq -20^{\circ}\text{C}$)
Da: Øvre temperaturgrense ($\leq -20^{\circ}\text{C}$)
Et: Temperatuuri ülemine piir ($\leq -20^{\circ}\text{C}$)
Lv: Temperatūras augšējā robeža ($\leq -20^{\circ}\text{C}$)
Lt: Viršutinė temperatūros riba ($\leq -20^{\circ}\text{C}$)
No: Øvre temperaturgrense ($\leq -20^{\circ}\text{C}$)
Sv: Högsta temperatur ($\leq -20^{\circ}\text{C}$)



En: Lower limit of temperature ($\geq 2^{\circ}\text{C}$)
Da: Nedre temperaturgrense ($\geq 2^{\circ}\text{C}$)
Et: Temperatuuri alumine piir ($\geq 2^{\circ}\text{C}$)
Lv: Temperatūras apakšējā robeža ($\geq 2^{\circ}\text{C}$)
Lt: Apatinė temperatūros riba ($\geq 2^{\circ}\text{C}$)
No: Nedre temperaturgrense ($\geq 2^{\circ}\text{C}$)
Sv: Lågsta temperatur ($\geq 2^{\circ}\text{C}$)



En: Do not freeze ($> 0^{\circ}\text{C}$)
Da: Må ikke nedfryses ($> 0^{\circ}\text{C}$)
Et: Mitte külmutada ($> 0^{\circ}\text{C}$)
Lv: Nesaldēt ($> 0^{\circ}\text{C}$)
Lt: Neužšaldykite ($> 0^{\circ}\text{C}$)
No: Må ikke fryse ($> 0^{\circ}\text{C}$)
Sv: Får ej frysas ($> 0^{\circ}\text{C}$)



En: Do not reuse
Da: Må ikke genbruges
Et: Mitte taaskasutada
Lv: Nelietot atkārtoti
Lt: Pakartotinai nenaudoti
No: Ikke til gjenbruk
Sv: Återanvänd ej

**Symbol Definition**

En: Keep away from sunlight
Da: Undgå direkte sollys
Et: Hoida päikesevalguse eest
Lv: Izvairīties no saules staru iedarbības
Lt: Saugokite nuo tiesioginių saulės spindulių
No: Unngå direkte sollys
Sv: Skyddas mot solljus



En: Batch code
Da: Batchkode
Et: Partinumber
Lv: Partija
Lt: Partijos kodas
No: Lotnummer
Sv: Tillverkningskod



En: Contains sufficient for (n) tests
Da: Indeholder tilstrækkeligt til (n) test
Et: Sisaldab piisavalt materjali (n) analüüsi jaoks
Lv: Saturs pietiekams (n) testiem
Lt: Turinio užtenka (n) tyrimų
No: Inneholder nok til (n) analyser
Sv: Räcker till (n) antal tester

2008-01

En: Date format (year-month)
Da: Datoformat (år-måned)
Et: Kuupäeva formaat (aasta-kuu)
Lv: Datuma formāts (gads-mēnesis)
Lt: Datos formatas (metai-mėnuo)
No: Datoformat (år-måned)
Sv: Datumformat (år-månad)



En: Use by
Da: Anvendes før
Et: Kasutada kuni
Lv: Izlietot līdz
Lt: Naudotinas iki
No: Bruk før
Sv: Utgångsdatum



En: Harmful
Da: Sundhedsskadelig
Et: Ohtlik
Lv: Kaitīgs
Lt: Pavojinga
No: Skadelig
Sv: Hälsoskadelig



En: Corrosive
Da: Ætsende
Et: Söövitav
Lv: Kodīgs
Lt: Ėdi
No: Etsende
Sv: Frätande

**Symbol Definition**

En: Toxic
Da: Giftig
Et: Toksiline
Lv: Toksisks
Lt: Toksiška
No: Giftig
Sv: Giftig



En: Dangerous for the environment
Da: Miljøfarlig
Et: Keskkonnale ohtlik
Lv: Bīstams apkārtējai videi
Lt: Pavojinga aplinkai
No: Miljøfarlig
Sv: Miljøfarlig



En: Bead Pack
Da: Kuglebeholder
Et: Kuulide konteiner
Lv: Lodīšu Paka
Lt: Rutuliukų paketas
No: Kulepakning
Sv: Kulkassett



En: Test Unit
Da: Testenheder
Et: Testüksus
Lv: Testvienības
Lt: Tyrimo indeliai
No: Testenheter
Sv: Testenheter



En: Reagent Wedge
Da: Reagensbeholder
Et: Reagendi konteiner
Lv: Reāģentu Konteiners
Lt: Reagento indelis
No: Reagensbeholder
Sv: Reagens-förpackning



En: Adjustor
Da: Justering-sopløsning
Et: Kalibraator
Lv: Kalibrators
Lt: Kalibratorius
No: Justerer
Sv: Justerare



En: Adjustor, low
Da: Justerings-opløsning, lav
Et: Kalibraator, madal
Lv: Kalibrators, low
Lt: Kalibratorius, žemas
No: Justerer, lav
Sv: Justerare, låg

Symbol Definition

ADJUSTOR H	En: Adjustor, high Da: Justeringsopløsning, høj Et: Kalibraator, kõrge Lv: Kalibrators, high Lt: Kalibratorius, aukštas No: Justerer, høy Sv: Justerare, hög
ADJUSTOR AB	En: Adjustor Antibody Da: Justeringsopløsningsantistof Et: Kalibraator-antikeha Lv: Antivielas Pret Kalibratoriem Lt: Kalibratoriaus antikūnai No: Justerer- antistoff Sv: Justerarantikropp
DIL	En: Sample Diluent Da: Fortyndingsvæske til prøver Et: proovilahjendaja Lv: Paraugu Diluents Lt: Mėginių skiediklis No: Fortynningsvæske Sv: Spädningsvätska
CONTROL	En: Control Da: Kontrol Et: Kontrollmaterjal Lv: Kontrolē Lt: Kontrolė No: Kontroll Sv: Kontroll
CONTROL 1	
CONTROL 2	
CONTROL 3	
CONTROL +	En: Positive Control Da: Positiv kontrol Et: Positiivne kontrollmaterjal Lv: Pozitīvā kontrole Lt: Teigiama kontrolė No: Positiv kontroll Sv: Positiv kontroll
CONTROL + L	En: Low Positive Control Da: Positiv kontrol i lav koncentration Et: Madal positiivne kontrollmaterjal Lv: Vāji pozitīvā kontrole Lt: Silpnai teigiama kontrolė No: Lav positiv kontroll Sv: Låg positiv kontroll

Symbol Definition

CONTROL -	En: Negative Control Da: Negativ kontrol Et: Negatiivne kontrollmaterjal Lv: Negatīvā kontrole Lt: Neigiama kontrolė No: Negativ kontroll Sv: Negativ kontroll
CONTROL AB	En: Control Antibody Da: Kontrolantistof Et: Kontroll antikeha Lv: Antivielas pret Kontrolēm Lt: Kontrolės antikūnai No: Kontroll-antistoff Sv: Kontrollantikropp
PRE A	En: Pretreatment Solution Da: Forbehandlingsopløsning Et: Eeltöötluise lahus Lv: Pirmapstrādes šķīdums Lt: Paruošimo tirpalas No: Forbehandlingsløsning Sv: Förbehandlingslösning
PRE B	
DITHIOTHREITOL	En: Dithiothreitol Solution Da: Dithiothreitol-opløsning Et: Ditiotreitoollahus Lv: Ditiotreitola šķīdums Lt: Ditiotreitolio tirpalas No: Ditiotreitol løsning Sv: Ditiotreitollösning
BORATE-KCN BUF	En: Borate-KCN Buffer Solution Da: Borat-KCN-bufferopløsning Et: Borate-KCN puhverlahus Lv: Borātu-KCN buferšķīdums Lt: Boro-KCN buferio tipalas No: Borat-KCN buffer Sv: Borat-KCN buffertlösning