

#### USO

Il presente dispositivo medico-diagnostico in vitro si definisce come metodo immunocromatografico rapido per la ricerca qualitativa della gonadotropina corionica umana, subunità  $\beta$ , nelle urine, siero o plasma umano quale ausilio diagnostico in gravidanza.

#### SOMMARIO e CONSIDERAZIONI CLINICHE

La gonadotropina corionica umana (hCG) è un ormone glicoproteico secreto dalla placenta in sviluppo, subito dopo il concepimento. Nella gravidanza fisiologica, l'hCG può essere rivelata nel siero dopo soli 7-10 giorni dal concepimento stesso<sup>1,2,3,4</sup>, aumentando in concentrazione molto rapidamente, spesso superando le 100 mIU/ml in prossimità della prima mancanza mestruale<sup>2,3,4</sup> raggiungendo il picco di 100000-200000 mIU/ml intorno alla 10-12 settimana di gestazione. Pertanto, a causa della dimostrazione precoce dell'ormone subito dopo il concepimento ed il suo rapido aumento in concentrazione durante il primo periodo di crescita embrionale, rendono l'hCG un importante marcatore per il rilevamento precoce dello stato di gravidanza.

La procedura risulta rapida e qualitativa ed è in grado di rilevare la presenza dell'hCG in campioni biologici umani di siero e urine. Il metodo utilizza anticorpi monoclonali e policlonali in unica formulazione, capaci di individuare l'ormone hCG nel campione con un elevato grado di sensibilità: in meno di 5 minuti, possono essere rilevati bassi livelli di hCG, prossimi a 25 mIU/ml. A tale livello di sensibilità analitica il presente metodo non evidenzia interferenze da cross-reattività con gli ormoni glicoproteici strutturalmente correlati, quali l'hTSH, l'hLH e l'hTSH ai relativi elevati livelli fisiologici.

#### PRINCIPIO DEL METODO

Si tratta di un immunodosaggio qualitativo rapido, su supporto monouso di tipo cromatografico con metodica "sandwich", per la determinazione della presenza dell'hCG nel siero e nelle urine durante le fasi iniziali della gravidanza. Nel sistema reattivo viene impiegata una formulazione di anticorpi comprendenti un anticorpo anti-hCG monoclonale, capace di rilevare selettivamente l'hCG a concentrazione elevata. Il test si esegue inoculando un'aliquota di siero o urina (100  $\mu$ l) nel pozzetto del campione del supporto di reazione ed osservando la formazione delle linee colorate. Il campione migra, per capillarità, attraverso la membrana inserita nel supporto di reazione reagendo con il coniugato colorato: si forma un complesso antigene-anticorpo monoclonale che è disponibile per il legame all'anticorpo policlonale anti-hCG presente nella zona di reazione positiva e si sviluppa una banda colorata quando la concentrazione dell'ormone nel campione supera i 25 mIU. In assenza di hCG rilevabile, non si osserva la formazione della linea colorata sulla zona di reazione positiva. La miscela di reazione continua a passare attraverso il supporto adsorbente superando la zona di reazione positiva raggiungendo la zona di controllo negativa e producendo la banda colorata in rosa, a dimostrazione che i reagenti ed il sistema di reazione funzionano correttamente (controllo procedurale).

#### CONTENUTO DEL KIT

Supporti di reazione	50 pz
Pipette plastiche monouso	50 pz

#### ACCESSORI NON FORNITI A CORREDO

- Portaprovette
- Timer

#### CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

Il kit può essere mantenuto a T. A. o refrigerato (2-25°C). I supporti di reazione sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta stampigliata sull'involucro relativo. NON CONGELARE

#### PRECAUZIONI

- DISPOSITIVO MEDICO-DIAGNOSTICO PER USO ESCLUSIVO in vitro
- Non utilizzare il kit oltre la data di scadenza indicata
- I supporti di reazioni devono essere mantenuti sigillati in loro involucro fino al momento dell'uso
- Tutti i campioni biologici impiegati devono essere considerati POTENZIALMENTE INFETTI e, come tali, manipolati secondo la B.P.L.



- I supporti di reazione utilizzati devono essere eliminati in contenitori per rifiuti pericolosi (biohazard)

#### RACCOLTA DEL CAMPIONE

**Urine**  
I campioni di urina dovrebbero essere raccolti in contenitore apposito in materiale plastico monouso, senza aggiunta di stabilizzanti.

Possono essere utilizzati campioni di urina raccolti in qualsiasi ora del giorno, sebbene le prime urine del mattino contengano la quota maggiore di ormone. Campioni di urina contenenti precipitati visibili, devono essere filtrati, centrifugati, o almeno lasciati decantare, utilizzando per il test solo il liquido limpido.

#### Siero

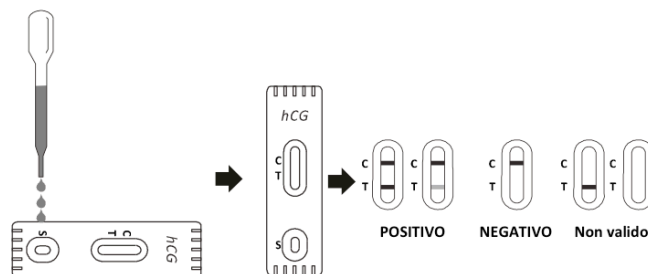
Raccogliere il campione ematico in provetta da prelievo senza aggiunta di anticoagulante. Separare il coagulo per centrifugazione e raccogliere il siero limpido in una provetta pulita. Il campione di siero così ottenuto può essere analizzato senza ulteriori trattamenti. I campioni possono essere mantenuti in frigorifero a 2°-8°C. e così conservati fino a 48 ore prima di essere analizzati (devono, comunque, essere riportati a temperatura ambiente

prima del test). Per periodi di stoccaggio prolungati, i campioni devono essere rapidamente congelati a -20°C: evitare, comunque lo scongelamento-ricongelamento.

#### PROCEDIMENTO OPERATIVO

Portare i reagenti a temperatura ambiente prima dell'uso (15-25°C)

1. Togliere il supporto di reazione dall'involucro di protezione, tagliando il sacchetto lungo il bordo sigillato, e utilizzarlo al più presto.
2. Porre il supporto di reazione sul banco di lavoro. Tenendo il contagocce in posizione verticale, trasferire 3 gocce piene di urina o siero (circa 120  $\mu$ l) nel pozzetto del campione (S) presente sul supporto di reazione, e far partire il timer. Evitare la formazione di bolle e/o schiuma che potrebbero penetrare nel pozzetto del campione (S). Vedi l'illustrazione riportata sotto
3. Attendere fino allo sviluppo della linea/e rosse. Leggere i risultati entro 3 minuti dall'inoculo (per le urine) o entro 5 minuti (per il siero)  
Nota: Una concentrazione bassa di hCG può risultare in una debole linea colorata nella regione T dopo i 3 o 5 minuti previsti: comunque, non interpretare mai i risultati oltre 10 minuti dall'inoculo.



#### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Entro 3 o 5 minuti (seconda del tipo di campione) apparirà una linea colorata nella regione del controllo C, indicando il completamento della reazione (singola linea colorata)

Il risultato qualitativo deve essere osservato nella regione del test T. Lo sviluppo della linea colorata (anche di debole intensità) nella regione T indica un risultato positivo (soggetto in gravidanza). Se non si osserva lo sviluppo della linea nella regione T il risultato deve essere considerato negativo (soggetto non in gravidanza). L'assenza di entrambe le linee colorate o la presenza della sola linea nella regione T rende invalido il test che, pertanto, dovrà essere ripetuto. Qualora il problema persista, non continuare ad impiegare il kit in uso e contattare il fornitore

#### CONTROLLO DI QUALITÀ

Controllo di qualità interno: Controlli interni della procedura sono inclusi nel metodo stesso: lo sviluppo di una linea colorata nella regione del controllo (C) rappresenta il controllo procedurale positivo, a conferma di una corretta esecuzione della metodica. Inoltre, la membrana immunocromatografica deve sempre mantenere il suo fondo chiaro.

Controllo di qualità esterno: In aggiunta ai consueti controlli standard di qualità del Laboratorio, è raccomandabile testare, all'apertura di un nuovo kit, un controllo positivo ed uno negativo: il range di concentrazione del controllo positivo dovrebbe essere compreso tra 25 e 250 mIU/ml di hCG, mentre per il negativo la concentrazione di hCG deve essere di "0" mIU/mL.

#### RISULTATI ATTESI

Nelle donne sane, non in gravidanza, e nei maschi sani il risultato del test deve risultare negativo. Durante la gravidanza si osserva presenza di hCG sia nelle urine che nel sangue. La concentrazione di tale ormone varia considerevolmente con il periodo di gestazione e tra individuo e individuo.

La sensibilità della presente metodica analitica è di 25 IU/ml, ed il metodo è in grado di rilevare lo stato di gravidanza anche solo dopo un giorno dal primo ritardo mestruale.

#### LIMITI DEL METODO

1. La presente metodica è di tipo qualitativo pertanto non è possibile determinare la concentrazione dell'hCG nel campione, né l'eventuale incremento o diminuzione della concentrazione d'hCG durante la gravidanza.
2. Campioni di urina particolarmente diluiti (peso specifico <1.010), possono contenere livelli troppo bassi di hCG (<25mIU/ml). Se si sospetta, in modo fondato, una gravidanza, sarà necessario ripetere il test 48 ore dopo, su urine della prima mattina.
3. Subito dopo il concepimento sono presenti nelle urine concentrazioni di hCG molto basse (<50 mIU/ml). Comunque, poiché un numero significativo di gravidanze terminano, fisiologicamente, entro il primo trimestre<sup>5</sup>, un risultato debolmente positivo deve essere sempre riconfermato utilizzando le prime urine del mattino o campioni di siero/plasma raccolti dopo ulteriori 48 ore.
4. Possono ottenersi risultati falsamente positivi. Altre condizioni, oltre alla gravidanza, comprendenti patologie trofoblastiche, neoplasie non-trofoblastiche (tumori del testicolo, carcinoma prostatico, cancro della mammella e del polmone, possono causare notevoli aumenti ematici di hCG<sup>6,7</sup>. Pertanto, la presenza di hCG in campioni di urina, utilizzando il kit IVD-hCG, non dovrebbe essere considerata diagnosi di

gravidanza, quando non possano essere escluse le condizioni patologiche sopra descritte.

- Il test può produrre risultati falsamente negativi. Falsi negativi si possono osservare quando il livello di hCG nel campione risulta inferiore a al limite di sensibilità del metodo. Qualora sia sospettato uno stato di gravidanza, il test deve essere ripetuto 48 ore dopo. Nel caso si sospetti una possibile gravidanza ed il test continui a risultare negativo, sarà necessaria la diagnosi clinica.
- Come per tutti i tests diagnostici che utilizzano anticorpi di topo, esiste la possibilità di interferenza a causa dell'eventuale presenza di anticorpi anti-topo (HAMA) nel campione. Pazienti che hanno ricevuto preparazioni farmacologiche contenenti anticorpi monoclonali per diagnosi e/o terapia possono avere in circolo HAMA. Campioni provenienti da tali soggetti possono dare risultati falsamente negativi o positivi.
- Il presente metodo fornisce informazioni per una diagnosi presuntiva di gravidanza. La conferma di gravidanza deve essere effettuata dal medico, dopo valutazione clinica. deve sempre essere interpretato in correlazione con ulteriori dati clinici e di Laboratorio

A multi-center clinical evaluation was conducted comparing the results obtained using the hCG Pregnancy Rapid Test Cassette to another commercially available urine and serum or plasma hCG Rapid test. The urine study included 413 specimens, and both assays identified 296 negative and 117 positive results. The serum study included 200 specimens, and both assays identified 141 negative and 59 positive results. The plasma study included 200 specimens, and both assays identified 141 negative and 59 positive results. The results demonstrated a >99% overall accuracy of the hCG Pregnancy Rapid Test Cassette when compared to the other urine and serum or plasma hCG Rapid test.

#### PRESTAZIONI DEL METODO

##### Accuratezza

Una valutazione clinica multicentrica è stata effettuata comparando i risultati ottenuti impiegando il presente kit diagnostico ed un'analoga metodica commerciale su membrana immunocromatografica per la ricerca della hCG nelle urine e nel siero. Nello studio condotto su campioni di urina sono stati analizzati 413 campioni ed entrambi i metodi diagnostici hanno individuato 296 risultati negativi e 117 positivi.

Per quanto riguarda i campioni di siero, ne sono stati testati 200 ed entrambi i metodi diagnostici hanno identificato 141 risultati negativi e 59 positivi.

Per quanto riguarda i campioni di plasma, ne sono stati testati 200 ed entrambi i metodi diagnostici hanno identificato 141 risultati negativi e 59 positivi.

Tali risultati dimostrano una accuratezza con correlazione > 99.0% tra i 2 metodi esaminati.

##### hCG Metodo di Riferimento (Urine)

Metodo	Risultati	Altro test rapido hCG		Totale risultati
		Positivi	Negativi	
PREGNANCY TEST	Positivi	117	0	117
	Negativi	0	296	296
Totale Risultati		117	296	413

Sensibilità: > 99.9% (97.5%~100%)\*

Specificità: > 99.9%(99.0%~100%)\*

Accuratezza: > 99.9 % (99.3%~100%) \*

\* 95% intervallo di confidenza

##### hCG Metodo di Riferimento (Siero)

Metodo	Risultati	Altro test rapido hCG		Totale risultati
		Positive	Negative	
PREGNANCY TEST	Positivi	59	0	59
	Negativi	0	141	141
Totale risultati		59	141	200

Sensibilità: > 99.9% (95.0%~100%)\*

Specificità: > 99.9%(97.9%~100%)\*

Accuratezza: > 99.9%(98.5%~100%) \*

\* 95% intervallo di confidenza

##### hCG Metodo di Riferimento (Plasma)

Metodo	Risultati	Altro test rapido hCG		Totale risultati
		Positivi	Negativi	
PREGNANCY TEST	Positivi	59	0	59
	Negativi	0	141	141
Totale risultati		59	141	200

Sensibilità: > 99.9% (95.0%~100%)\*

Specificità > 99.9%(97.9%~100%)\*

Accuratezza: > 99.9%(98.5%~100%) \*

\* 95% intervallo di confidenza

#### Sensibilità e specificità

Il metodo è in grado di dosare hCG sieriche o urinarie a concentrazioni maggiori o uguali a 25 mIU/ml (sensibilità), come indicato dallo sviluppo della banda colorata.

Questa procedura analitica è stata standardizzata secondo il Riferimento Internazionale dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO International Standard)

La specificità del metodo è stata determinata mediante studi di cross-reattività su campioni contenenti concentrazioni note di ormone luteinizzante (hLH), ormone follicolo-stimolante (hFSH) e ormone tiro-stimolante (hTSH); l'aggiunta a campioni negativi (0 IU/ml di hCG) e positivi (25 IU/ml di hCG) di hLH (300 mIU/ml), hFSH (1000 mIU/ml) e hTSH (1000 mIU/ml), ha dimostrato totale assenza di cross-reattività.

#### Precisione

##### Intra-saggio

La precisione intrasaggio è stata determinata utilizzando 10 replicati degli stessi tre campioni contenenti 25 mIU/ml, 100 mIU/ml, 250 mIU/ml e 0 mIU/ml di hCG. I negativi e positivi sono stati identificati nel 100% dei casi.

##### Precisione

##### Inter-saggio

La precisione intrasaggio è stata determinata utilizzando gli stessi tre campioni contenenti 25 mIU/ml, 100 mIU/ml, 250 mIU/ml e 0 mIU/ml di hCG in 10 sedute indipendenti. I negativi e positivi sono stati identificati nel 100% dei casi.

#### SOSTANZE POTENZIALMENTE INTERFERENTI

I seguenti composti chimici sono stati aggiunti a campioni negativi e positivi per hCG:

• Acetaminofene	20 mg/dl
• Caffaina	20 mg/dl
• Acido acetilsalicilico	20 mg/dl
• Emoglobina	1 mg/dl
• Acido ascorbico	20 mg/dl
• Glucosio	2 g/dl
• Atropina	20 mg/dl
• Acido gentisico	20 mg/dl
• Bilirubina (siero)	40 mg/dl
• Bilirubina (urine)	2 mg/dl
• Trigliceridi (siero)	1200 mg/dl

In nessun caso si è osservata interferenza.

#### BIBLIOGRAFIA

- Batzer FR. Hormonal evaluation of early pregnancy, Fert. Steril. 1980; 34(1): 1-13
- Catt KJ, ML Dufau, JL Vaitukaitis Appearance of hCG in pregnancy plasma following the initiation of implantation of the blastocyst, J. Clin. Endocrinol. Metab. 1975; 40(3): 537-540
- Braunstein GD, J Rasor, H. Danzer, D Adler, ME Wade Serum or plasma human chorionic gonadotropin levels throughout normal pregnancy, Am. J. Obstet. Gynecol. 1976; 126(6): 678-681
- Lenton EA, LM Neal, R Sulaiman Plasma concentration of human chorionic gonadotropin from the time of implantation until the second week of pregnancy, Fert. Steril. 1982; 37(6): 773-778
- Steier JA, P Bergsjö, OL Myking Human chorionic gonadotropin in maternal plasma after induced abortion, spontaneous abortion and removed ectopic pregnancy, Obstet. Gynecol. 1984; 64(3): 391-394
- Dawood MY, BB Saxena, R Landesman Human chorionic gonadotropin and its subunits in hydatidiform mole and choriocarcinoma, Obstet. Gynecol. 1977; 50(2): 172-181
- Braunstein GD, JL Vaitukaitis, PP Carbone, GT Ross Ectopic production of human chorionic gonadotropin by neoplasms, Ann. Intern Med. 1973; 78(1): 39-45.

#### Codici di Riordino:

**C2788 PREGNANCY TEST**

**50 determinazioni**



Bio Plastic Sas - 00100 Roma