

## Test für den qualitativen Nachweis des Schwangerschaftshormons hCG in Urin- oder Serumproben



Nur für die professionelle *In-vitro*-Diagnostik

### VERWENDUNGSZWECK UND ANWENDUNGSBEREICH

Der Hitado hcg combo Schwangerschaftstest ist ein schneller, visueller Immunoassay für den qualitativen, präsumptiven Nachweis des humanen Choriongonadotropins (hCG) in humanen Urin- oder Serumproben. Der Test ist als Hilfsmittel beim frühen Nachweis einer Schwangerschaft bestimmt und nur für den professionellen Gebrauch ausgelegt.

### EINLEITUNG UND DIAGNOSTISCHE BEDEUTUNG

Humanes Choriongonadotropin (hCG) ist ein Glycoprotein-hormon, das bereits kurz nach der Befruchtung von der Plazenta gebildet wird und sich bereits in der Frühphase der Schwangerschaft im Urin oder Serum nachweisen lässt.

Bei einer normalen Schwangerschaft kann hCG schon 7 Tage nach der Empfängnis im Serum oder Urin nachgewiesen werden. Die hCG-Konzentration steigt sehr rasch an, erreicht mit dem ersten Ausbleiben der Regelblutung häufig einen Wert von über 50 mIU/ml und gipfelt schließlich in der 10. bis 12. Schwangerschaftswoche in einem Bereich von 30.000–290.000 mIU/ml.

Das frühzeitige Auftreten des hCG kurz nach der Befruchtung im Urin und Blut und sein darauffolgender rapider Konzentrationsanstieg machen es zu einem hervorragend geeigneten Marker für den frühen Nachweis einer Schwangerschaft.

Erhöhte hCG-Spiegel, die mit denen in Frühstadien einer Schwangerschaft vergleichbar sind, können auch mit einer Blasenmole oder einem Chorionkarzinom assoziiert sein. Deshalb sollten diese Möglichkeiten ausgeschlossen werden, bevor eine Schwangerschaft diagnostiziert wird.

Der Hitado hcg combo Schwangerschaftstest ist ein schneller, visueller Immunoassay für den Nachweis von hCG ab einer Konzentration von 25 mIU/ml im Urin oder Serum.

Der Test verwendet anti-hCG-Antikörper zum Nachweis von hCG im Urin oder Serum. Die Spezifität der Immunreaktion schließt eine Kreuzreaktivität mit den strukturverwandten Hormonen (hFSH, hLH und hTSH) bis weit über die zu erwartenden maximalen physiologischen Konzentrationen aus.

### TESTPRINZIP

Der Hitado hcg combo Schwangerschaftstest weist humanes Choriongonadotropin durch visuelle Interpretation der Farbentwicklung auf dem internen Teststreifen nach. Anti-hCG-Antikörper sind im Testlinienbereich der Membran immobilisiert. Anti-Maus-Antikörper sind im Kontrolllinienbereich immobilisiert. Während der Testung, reagiert die Probe

mit anti-hCG-Antikörpern, die mit farbigen Partikeln konjugiert und auf dem Konjugat-Pad der Membran vorbeschichtet sind. Das Gemisch wandert dann durch Kapillarkraft die Membran entlang und interagiert mit den Reagenzien auf der Membran. Wenn in der Probe genügend hCG vorhanden ist, erscheint eine farbige Linie im Testlinienbereich der Membran. Die Anwesenheit dieser farbigen Linie deutet auf ein positives Ergebnis hin, während ihre Abwesenheit auf ein negatives Ergebnis hinweist.

Das Erscheinen der farbigen Linie im Kontrolllinienbereich (C) dient als Verfahrenskontrolle und weist darauf hin, dass genügend Probenvolumen hinzugegeben wurde und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

### BESTANDTEILE DER TESTPACKUNG

- 25 Hitado hcg combo Testkassetten (inkl. Einwegpipetten)
- 1 Gebrauchsanweisung

### ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE MATERIALIEN

- Probensammelbehälter
- Timer

### HALTBARKEIT UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

Die Test-Kits sollten bei 2-30°C bis zum auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum gelagert werden. Die Testkassette sollte bis zum Gebrauch im verschlossenen Folienbeutel verbleiben. Frieren Sie die Tests nicht ein.

Es ist darauf zu achten, dass die Bestandteile des Test-Kits vor Kontamination geschützt sind. Verwenden Sie die Testkassetten nicht, wenn es Anzeichen einer mikrobiellen Kontamination oder einer Ausfällung gibt. Biologische Kontaminationen von Dosiervorrichtungen, Behältern oder Reagenzien können zu falschen Ergebnissen führen.

### WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch.
- Lesen Sie die komplette Gebrauchsanweisung vor der Testdurchführung sorgfältig durch.
- Den Test nicht nach dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Test nicht verwenden, wenn der Folienbeutel beschädigt ist.
- Tests nicht wiederverwenden.
- Proben nicht in das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) geben.

- Das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) nicht berühren, um Kontamination zu vermeiden.
- Nur Urinproben oder Serumproben und keine anderen Flüssigkeiten sollten für die Testung verwendet werden.
- Bringen Sie die Proben vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (15-30°C).
- Zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen sollte für jede Probe ein eigener Probensammelbehälter verwendet werden.
- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit Proben und Testkits umgegangen wird.
- Tragen Sie beim Umgang mit Proben Schutzkleidung wie Laborkittel, Einmalhandschuhe und Schutzbrille.
- Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie infektiöses Material enthielten. Beachten Sie bestehende Vorsichtsmaßnahmen für mikrobiologische Risiken während aller Verfahren sowie Standardrichtlinien für die korrekte Probenentsorgung.
- Dieser Test enthält Erzeugnisse tierischen Ursprungs. Zertifizierte Kenntnisse der Herkunft und/oder des Sanitärzustands der Tiere gewährleisten nicht völlig die Abwesenheit übertragbarer Pathogene. Es wird daher empfohlen, diese Produkte als potentiell infektiös zu betrachten und sie gemäß den üblichen Sicherheitsvorkehrungen zu behandeln (z.B. Verschlucken oder Einatmen vermeiden).
- Feuchtigkeit und hohe Temperaturen können Testergebnisse beeinträchtigen.
- Benutzte Testmaterialien sollten gemäß lokalen Vorgaben entsorgt werden.

#### PROBENNAHME, -VORBEREITUNG UND -LAGERUNG

##### Urinproben:

- Sammeln Sie eine Urinprobe in einem sauberen und trockenen Probensammelbehälter aus Kunststoff oder Glas ohne Konservierungsstoffe. Ab dem ersten Tag der ausbleibenden Periode sind die hCG Konzentrationen in der Regel so hoch, dass Urinproben von jeder Tageszeit verwendet werden können. Allerdings sollte eine übermäßige Flüssigkeitsaufnahme vermieden werden (Verdünnungseffekt).
- Wird der Test zu einem früheren Zeitpunkt eingesetzt, sollte der erste Morgenurin verwendet werden, da er im Allgemeinen die höchste hCG-Konzentration enthält. Für Tests mit der Nachweisgrenze von 25 mIU/ml ist eine Testung ab 2 Tagen vor der erwarteten Periode möglich. Für Tests mit einer Nachweisgrenze von 10 mIU/ml ist der frühestmögliche Zeitpunkt der Testdurchführung 4 Tage vor der erwarteten Periode. Generell steigt die Gefahr falsch negativer Ergebnisse, je früher getestet wird (siehe auch Punkt 12 „Grenzen des Tests“).
- Für die korrekte Ausführung des Testverfahrens sollten die Proben und Tests vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur gebracht werden. Urinproben mit sichtbaren Aus-

fällungen sollten zentrifugiert, filtriert oder bis zum Absetzen der Partikel stehen gelassen werden, um einen klaren Überstand zum Testen zu erhalten. Nur ein klarer Überstand sollte für die Testung verwendet werden.

- Falls der Test nicht sofort durchgeführt wird, sollten die Urinproben bis zu 48 Stunden bei 2-8°C aufbewahrt werden. Für langfristige Lagerung sollten die Proben bei Temperaturen unter -20°C eingefroren werden.
- Eingefrorene Proben müssen vor der Testdurchführung vollständig aufgetaut und gut gemischt werden. Proben sollten nicht wiederholt eingefroren und aufgetaut werden.

##### Serumproben:

- Entnehmen Sie eine Blutprobe aseptisch durch Venenpunktion.
- Trennen Sie Serum so schnell wie möglich vom Blutkuchen, um eine Hämolyse zu vermeiden. Verwenden Sie nur klare und nicht-hämolytierte Proben. Proben, die sichtbare Partikel enthalten, sollten vor der Testdurchführung durch Zentrifugieren geklärt werden.
- Ikterische, lipämische, hämolytierte oder kontaminierte Seren können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Idealerweise sollte die Testung unverzüglich nach der Probenentnahme durchgeführt werden. Lassen Sie die Proben nicht über längere Zeit bei Raumtemperatur stehen. Serumproben können bis zu 3 Tagen bei 2-8°C aufbewahrt werden. Für langfristige Lagerung sollten die Proben bei Temperaturen unter -20°C eingefroren werden.
- Bringen Sie die Proben vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur. Eingefrorene Proben müssen vor der Testdurchführung vollständig aufgetaut und gut gemischt werden. Proben sollten nicht wiederholt eingefroren und aufgetaut werden.

#### TESTDURCHFÜHRUNG

##### Bringen Sie alle Tests und Proben vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (15-30°C).

1. Entnehmen Sie die Testkassette dem Folienbeutel und legen Sie sie auf eine saubere und ebene Oberfläche. Beschriften Sie die Testkassette mit der Patienten- oder Kontrollidentifikation. Um die besten Ergebnisse zu erzielen, sollte der Test ohne Verzögerung durchgeführt werden.
2. Halten Sie die Pipette senkrecht und geben Sie 3 Tropfen der Probe (ca. 120 µL) direkt in die Probenvertiefung (S) der Testkassette. Starten Sie den Timer.

Wenn eine Mikropipette verwendet wird, sollte für jede Probe eine neue Pipettenspitze benutzt werden.

Vermeiden Sie dabei die Bildung von Luftblasen in der Probenvertiefung (S) und geben Sie keine Lösung in das Ergebnisfeld.



Wenn der Test zu laufen beginnt, werden Sie beobachten wie eine farbige Flüssigkeit über die Membran wandert.

Warten Sie darauf, dass die farbige(n) Linie(n) erscheint/en. Ablesezeiten: Tests, die mit Urin- oder Serumproben verwendet werden können, sollten 5 Minuten nach Probenzugabe abgelesen werden, wobei Proben mit hoher hCG Konzentrationen auch mit diesen Tests schon nach 3 Minuten positive Ergebnisse zeigen können.

Für alle Tests sollte die Ablesezeit 5 Minuten nicht überschreiten.

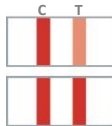


**Hinweis:** Bei längeren Ablesezeiten erhöht sich die Gefahr, falsch positiver Ergebnisse, da mit steigender Inkubationszeit zunehmend niedrigere hCG Konzentrationen nachgewiesen werden. Dadurch könnten in seltenen Fällen auch Basalkonzentrationen von nicht schwangeren, insbesondere menopausalen Frauen erfasst werden.

## TESTAUSWERTUNG

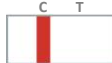
### Positiv:

Zwei farbige Linien erscheinen auf der Membran; eine Linie erscheint im Kontrolllinienbereich (C) und die andere im Testlinienbereich (T).



### Negativ:

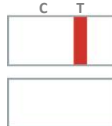
Nur eine farbige Linie erscheint im Kontrolllinienbereich (C). Keine Linie erscheint im Testlinienbereich (T).



### Ungültig:

Keine Kontrolllinie (C) erscheint.

Ergebnisse des Tests, bei dem keine Kontrolllinie zur festgelegten Ablesezeit ausgebildet wird, sollten verworfen werden. Überprüfen Sie das Verfahren und wiederholen Sie den Test mit einer neuen Testkassette. Falls das Problem weiterbesteht, das Test-Kit ab sofort nicht weiterverwenden und sich mit Ihrem Distributor in Verbindung setzen.



### Hinweis:

- Die Farbintensität im Testlinienbereich (T) kann abhängig von der Konzentration des Analyten, der in der Probe vorhanden ist, variieren. Daher sollte jede Farbtönung im Testlinienbereich (T) als positives Ergebnis betrachtet werden. Beachten Sie, dass es sich bei diesem Test nur um einen qualitativen Test handelt und dass er die Analytkonzentration in der Probe nicht bestimmen kann.

- Ungenügendes Probenvolumen, abgelaufene Tests oder fehlerhafte Vorgehensweise sind die wahrscheinlichsten Ursachen dafür, dass die Kontrolllinie nicht erscheint.
- Im Falle einer starken Testlinie (T) kann die Kontrolllinie (C) sehr blass sein. Das Testergebnis sollte dann trotzdem als gültig angesehen werden.
- Im Falle eines negativen Testergebnisses (evtl. bei sehr verdünnten Proben) trotz Verdachtes auf Schwangerschaft sollte der Test nach 48-72 Stunden wiederholt oder zusätzlich ein quantitativer Test durchgeführt werden, da es sein kann, dass die hCG-Konzentration nicht hoch genug ist. Der erste Morgenurin enthält die höchste hCG-Konzentration.

## QUALITÄTSKONTROLLE

Die Testkassette beinhaltet eine interne Verfahrenskontrolle:

Eine im Kontrolllinienbereich (C) erscheinende farbige Linie wird als interne Verfahrenskontrolle betrachtet. Sie bestätigt ausreichendes Probenvolumen, eine korrekte Verfahrenstechnik und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

*Die Gute Laborpraxis (GLP)* empfiehlt den Einsatz von Kontrollmaterialien zum Nachweis der einwandfreien Leistung des Test-Kits.

## GRENZEN DES TESTS

- Die Hitado hcg combo Schwangerschaftstests sind nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch ausgelegt und nur für den qualitativen Nachweis des humanen Choriongonadotropins (hCG) bestimmt.
- Sehr verdünnte Urinproben, die ein niedriges spezifisches Gewicht aufweisen, enthalten eventuell keine repräsentativen hCG-Konzentrationen. Falls ein negatives Ergebnis erhalten wurde, jedoch eine Schwangerschaft vermutet wird, sollte eine Probe des ersten Morgenurins 48-72 Stunden später entnommen und getestet werden.
- Werden die Tests früher als vor dem ersten Tag der ausbleibenden Periode eingesetzt, besteht auf Grund individueller Schwankungen in der hCG Konzentration die Gefahr falsch negativer Ergebnisse. Werden die 10 mIU/ml Tests 4 Tage vor der erwarteten Periode verwendet, werden laut Literatur bei Urinproben zunächst nur ca. 53-74% der Schwangerschaften erfasst. Bei einer vermuteten Schwangerschaft sollte deswegen zu einem späteren Zeitpunkt mit Morgenurin erneut getestet werden. Alternativ kann die hCG Konzentration auch mit einer sensitiveren quantitativen Methode ermittelt werden.
- Bei gesunden Männern und fertilen, gesunden, nicht-schwangeren Frauen wird mit den Hitado hcg combo Schwangerschaftstests in der Regel kein hCG nachgewiesen. In der Menopause steigen die basalen hCG-Werte an, so dass insbesondere mit 10 mIU/ml Tests in seltenen Fällen falsch positive Ergebnisse auftreten können.

- Sehr niedrige hCG-Konzentrationen (<50 mIU/mL) sind im Urin häufig bereits kurz nach der Einnistung einer befruchteten Eizelle in der Gebärmutter vorhanden. Da jedoch eine beträchtliche Anzahl von Schwangerschaften im ersten Drittel aus natürlichen Gründen endet, sollte ein schwach positives Testergebnis mit Hilfe anderer klinischer Methoden bestätigt werden. Ggf. sollte der Test zu einem späteren Zeitpunkt mit Morgenurin wiederholt werden. Bei der Zeitpektung sollte das Ergebnis dann eindeutig positiv ausfallen.
- Tritt nach einem schwach positiven Ergebnis bei der Wiederholung mit Morgenurin zu einem späteren Zeitpunkt ein negatives Ergebnis auf, kann dies einen spontanen Schwangerschaftsabbruch zur Ursache haben. Ca. 22% der klinisch nicht erkannten Schwangerschaften enden mit einer unbemerkten Fehlgeburt und werden als leicht verspätete Periode wahrgenommen.
- Neben einer Schwangerschaft können eine Reihe von anderen Umständen, einschließlich trophoblastische Erkrankungen, wie z.B. Blasenmole, Chorionkarzinom, Hodentumoren, Prostatakrebs und Lungenkrebs sowie hCG-beinhaltende Medikamente eine erhöhte hCG-Konzentration hervorrufen, die vom Test als positiv erfasst werden.
- Urogenitalinfektionen können zu einem falsch positiven hCG Testergebnis führen. Hinweisgebend auf Urogenitalinfektionen können unter anderem eine erhöhte Anzahl von Leukozyten, ein basischer pH, eine erhöhte Nitrit-, Erythrozyten- oder Proteinmenge im Urin sein. Bitte überprüfen Sie dies bei Verdacht mittels Urinanalysestreifen oder spezifischer Abstrichtests. Auffällige Urinproben sollten über eine Laboruntersuchung überprüft werden. Bei einem positiven Testergebnis sollte keine Schwangerschaft diagnostiziert werden, bis die oben genannten Möglichkeiten nicht klar ausgeschlossen wurden.
- Die Tests sind auf intaktes hCG kalibriert. In Abhängigkeit vom Schwangerschaftsstadium können in Serum und Urin die Anteile an intaktem hCG und anderen hCG-Formen unterschiedlich sein. Besonders am Beginn der Schwangerschaft bei noch niedrigen hCG Werten, kann dies in seltenen Fällen zu abweichenden Ergebnissen für beide Probenmaterialien führen. Auch bei Tests, die auf dem Nachweis von beta-hCG beruhen, können am Schwangerschaftsbeginn in seltenen Fällen abweichende Ergebnisse beobachtet werden.
- Für Urinproben: In einem weiter fortgeschrittenen Stadium der Schwangerschaft (ca. 5.-8. Schwangerschaftswoche) können in seltenen Fällen erhöhte Mengen an hCG-beta-core Fragment im Urin vorliegen, die die Nachweisreaktion behindern und zu falsch negativen Ergebnissen trotz hoher hCG Konzentration führen. [7]
- Für Serumproben: Wie mit allen Assays, welche anti-Maus-Antikörper verwenden, besteht die Möglichkeit einer Interferenz mit anti-Maus-Antikörpern (HAMA) in der Probe.

Proben von den Patienten, welche Präparationen aus monoklonalen Antikörpern für die Diagnose oder Therapie bekommen haben, können HAMA enthalten (immunologisch interferierende Substanzen). Solche Proben können falsch positive oder falsch negative Testergebnisse hervorrufen. Auch heterophile Antikörper im Serum können fehlerhafte Ergebnisse hervorrufen.

- Wie mit allen diagnostischen Tests, darf eine endgültige klinische Diagnose nicht auf den Ergebnissen eines einzelnen Tests beruhen, sondern muss vom Arzt nach Evaluierung aller klinischen und laborklinischen Befunde gestellt werden. Es empfiehlt sich deshalb die erzielten Ergebnisse mit einer anderen Testmethode zu bestätigen oder in Verbindung mit einem klinischen Befund zu interpretieren.

#### Erwartete Werte:

Der Referenzbereich (Serum, 97,5 Perzentile, beta-hCG) von gesunden fertilen, nicht schwangeren Frauen liegt bei <3 mIU/ml. Bei postmenopausalen Frauen steigt dieser Wert auf <5 mIU/ml. In anderer Literatur finden sich jedoch auch vereinzelt höhere Werte. Nach der Befruchtung kommt es zu einem starken Anstieg, so dass ca. 10 Tage nach der Befruchtung (4 Tage vor der ausbleibenden Periode) häufig schon Werte von  $\geq 10$  mIU/ml erreicht werden. Die Verdopplungszeit variiert mit dem Verlauf der Schwangerschaft und liegt zu Beginn der Schwangerschaft mit ca. 2,5 Tagen. Im Urin besteht, bedingt durch Variationen in der Flüssigkeitsaufnahme, eine hohe individuelle Streubreite. Im Verlauf des ersten Trimesters werden Konzentrationen von 30.000-290.000 festgestellt, die dann im 2. und 3. Trimester auf Werte von 45.000-100.000 mIU/ml sinken. Nach der Geburt fallen die hCG Serumwerte ab und sind nach ca. 11-17 Tagen nicht mehr nachweisbar. [1], [6]

#### LEISTUNGSMERKMALE DES TESTS

##### Nachweisgrenze und Messbereich

Die untere Nachweisgrenze des Hitado hcg combo Schwangerschaftstests liegt bei 25 mIU/ml (Kalibrierung mit dem 4. IRP von hCG). Bis zu einer maximalen Konzentration von 600.000 mIU/ml zeigen die Hitado hcg combo Schwangerschaftstests keinen Prozoneneffekt.

##### Analytische Spezifität:

##### Kreuzreaktivität

In einer Kreuzreaktivitätsstudie mit den strukturverwandten Hormonen LH (300 mIU/ml), hFSH (1000 mIU/ml) und hTSH (1 mIU/ml) zeigten die Hitado hcg combo Schwangerschaftstests keine Kreuzreaktivität. Die eingesetzten Konzentrationen sind höher als die physiologisch maximal zu erwartenden Werte gesunder Frauen.

**REF** HI-307-35300601

### Interferenzen

hCG freie Urinproben und Urinproben mit hCG Konzentrationen an der Nachweisgrenze wurden mit zahlreichen Verbindungen versetzt. Die Testergebnisse wurden durch keine dieser Verbindungen verfälscht.

Substanz	Konzentration
Acetaminophen	0,2 mg/ml
Acetylsalicylsäure	0,2 mg/ml
Ascorbinsäure	0,2 mg/ml
Atropin	0,2 mg/ml
Bilirubin	0,2 mg/ml
EDTA	0,2 mg/ml
Ethanol	1,0 %
Koffein	0,2 mg/ml
Gentisinsäure	0,2 mg/ml
Glucose	20 mg/ml
Hämoglobin	10 µg/ml
Harnstoff	20 mg/ml
Harnsäure	0,2 mg/ml
Kreatin	0,2 mg/ml
Oxalsäure	0,4 mg/ml
THC	0,1 mg/ml

### Diagnostische Leistungsmerkmale

In klinischen Studien wurden die Hitado hcg combo Schwangerschaftstests mit klinischem Probenmaterial gegen einen anderen Schnelltest mit identischer Nachweisgrenze oder gegen einen Enzyme Immunoassay (EIA) getestet. Anhand der Ergebnisse wurden die relativen diagnostischen Leistungsmerkmale berechnet. Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabellen dargestellt.

### Probenmaterial: Urin

Hitado hcg combo Schwangerschaftstest	EIA			Total
	Positiv	Negativ	Total	
Positiv	130	0	130	
Negativ	0	178	178	
Total	130	178	308	

Relative diagnostische Sensitivität: >99,9%

Relative diagnostische Spezifität: >99,9%

Gesamtübereinstimmung: >99,9%

### Probenmaterial: Serum

Hitado hcg combo Schwangerschaftstest	EIA			Total
	Positiv	Negativ	Total	
Positiv	169	0	169	
Negativ	0	250	250	
Total	169	250	419	

Relative diagnostische Sensitivität: >99,9%

Relative diagnostische Spezifität: >99,9%

Gesamtübereinstimmung: >99,9%

### REFERENZEN

1. Ed. Lothar Thomas, Labor und Diagnose (8th Edition, 2012) TH Books, Chapter 38.3, 1859 ff
  2. Butler SA et al. (2001) Detection of Early Pregnancy Forms of Human Chorionic Gonadotropin by Home Pregnancy Test Devices, Clinical Chemistry 47(12): 2131-2136
  3. Lenton EA et al. (1982) Plasma concentrations of human chorionic gonadotropin from the time of implantation until the second week of pregnancy, Fertility and Sterility, 37(6): 773-778
  4. Fritz MA et al. (1987) Doubling time of human chorionic gonadotropin (hCG) in early normal pregnancy: relationship to hCG concentration and gestational age, Fertility and Sterility, 47(4): 584-589
  5. Stenman U-H et al. (2006) The classification, functions and clinical use of different isoforms of hCG, Human Reproduction Update 12(6): 769-84
  6. <http://americanpregnancy.org/while-pregnant/hcg-levels/from-15-8-19,2:08-pm>
  7. Gronowski AM et al. (2009) False-Negative Results in Point-of-Care Qualitative Human Chorionic Gonadotropin (hCG) Devices Due to Excess hCGβ Core Fragment, Clinical Chemistry, 55 (7): 1389-1394
  8. Gronowski AM et al (2009) False-Negative Results from Point-of-Care Qualitative Human Chorionic Gonadotropin (hCG) Devices Caused by Excess hCG Core Fragment Vary with Device Lot Number; Clin Chem 55:10, 1885-1886
- Rev. 3.1, 2017-11-08 DaSa

Symbol	Bedeutung
	CE Konformitätszeichen
	Gebrauchsanweisung beachten
	In-vitro-Diagnostika
	Temperaturbegrenzung
	Chargenbezeichnung
	Nicht zur Wiederverwendung
	Verwendbar bis
	Bestellnummer
	Hersteller
	Ausreichend für <n> Ansätze

## Test pour la détection de l'hormone de grossesse hCG dans les échantillons d'urine ou de sérum sanguin



Uniquement pour le diagnostic *in vitro* professionnel

### DOMAINE D'APPLICATION

Le test Hitado hcg combo est un immunodosage chromatographique pour la détection qualitative de la gonadotrophine chorionique humaine (hCG) dans l'urine ou le sérum. Le test permet de détecter une grossesse, même précoce. Il est réservé à un usage professionnel.

### INTRODUCTION ET SIGNIFICATION CLINIQUE

La gonadotrophine chorionique humaine (hCG) est une hormone glycoprotéique produite dès la fécondation par le placenta. Cette hormone est détectable dès la phase précoce de la grossesse dans l'urine et le sérum.

Au cours d'une grossesse normale, la hCG peut être détectée dans le sérum ou dans l'urine à peine 7 jours après la conception. La concentration en hCG augmente très rapidement pour atteindre dès la première absence des règles un taux supérieur à 50 mIU/ml. Elle culmine à des valeurs comprises entre 11500 à 300000 mIU/ml entre la 10<sup>ème</sup> à la 12<sup>ème</sup> semaine.

L'apparition précoce de la hCG après la fécondation dans l'urine ou le sérum et l'augmentation de sa concentration lors de la phase précoce de la grossesse font de cette hormone un indicateur parfait pour la détection précoce d'une grossesse.

Un taux élevé en hCG, comparable à celui obtenu lors de la phase précoce d'une grossesse, peut également s'accompagner d'une môle ou d'un chorio-épithéliome. Pour cette raison, ces deux possibilités doivent être écartées avant de pouvoir diagnostiquer une grossesse.

Le test Hitado hcg combo est un immunodosage chromatographique pour la détection rapide de la hCG à partir d'une concentration de 25 mIU/ml dans l'urine ou dans le sérum.

Le test utilise des anticorps monoclonaux anti-hCG pour la détection de la hCG dans l'urine (ou le sérum). La spécificité de la réaction immunitaire exclut une réaction croisée avec les hormones glycoprotéiques de structure voisine (hFSH, hLH et hTSH).

### PRINCIPE DU TEST

Le test Hitado hcg combo est destiné à la détection de la gonadotrophine chorionique humaine. Cette détection se fait grâce à l'interprétation visuelle des couleurs développées sur la bandelette interne. Des anticorps anti-hCG sont immobilisés à hauteur de la zone de test de la membrane. Des anticorps anti-souris sont immobilisés à hauteur de la zone de contrôle de la membrane. Pendant la manipulation, le

prélèvement réagit avec les anticorps anti-hCG conjugués à des particules d'or préalablement immobilisés sur le tampon. Le mélange migre le long de la membrane par capillarité et interagit avec les réactifs le long de la membrane. Si une quantité suffisante de hCG est présente dans l'échantillon, une ligne colorée apparaît à hauteur de la zone de test de la membrane. La présence de cette ligne colorée indique un résultat positif. L'absence de cette ligne indique un résultat négatif.

La ligne colorée de contrôle (C) qui apparaît est une procédure de contrôle interne. Cette ligne confirme que le volume d'échantillon était suffisant et que la membrane a été suffisamment imbibée.

### MATÉRIEL FOURNI

- 25 cassettes hcg combo (pipettes à usage unique incluses)
- 1 notice d'utilisation

### MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE NÉCESSAIRE

- Récipient collecteur
- Chronomètre

### PÉREMPTION ET CONSERVATION DES RÉACTIFS

Conservé le test à une température comprise entre 2 et 30°C dans son emballage d'origine jusqu'à la date de péremption. Conserver la cassette dans son emballage fermé jusqu'à son utilisation. Ne pas congeler les échantillons.

Il est recommandé de protéger les kits de toute contamination. Ne pas utiliser les cassettes si des signes de contamination bactériennes ou de précipités sont observables. Une contamination biologique des doseurs, des contenants ou des réactifs peut entraîner des résultats faussés.

### AVERTISSEMENT ET PRÉCAUTIONS

- Test réservé au diagnostic *in-vitro* professionnel.
- Lire attentivement la notice d'utilisation avant de réaliser le test.
- Ne pas utiliser le test après la date de péremption indiquée sur l'emballage.
- Ne pas utiliser le test si l'emballage est endommagé.
- Test à usage unique.
- Ne pas déposer de prélèvement sur la zone réactive (fenêtre de résultats).
- Ne pas toucher la zone réactive (zone de résultats) afin d'éviter toute contamination.

- Utiliser exclusivement des échantillons d'urine ou des échantillons de sérum. Ne jamais utiliser d'autres matrices avec ce test.
- Amener les échantillons à température ambiante avant de commencer le test (15-30°C).
- Utiliser un collecteur différent pour chaque échantillon afin d'éviter tout risque de contaminations croisées.
- Ne pas manger, boire ou fumer à proximité de la zone de manipulation des tests.
- Utiliser des vêtements de protection tels qu'une blouse de laboratoire, des gants à usage unique et des lunettes de protection.
- Manipuler les échantillons en les considérant comme de potentiels réactifs infectieux. Respecter les précautions relatives aux risques microbiologiques pendant les manipulations ainsi que les directives locales en vigueur concernant l'élimination des déchets.
- Ce test contient des produits d'origine animale. La certification concernant l'origine et l'état sanitaire des animaux ne certifie pas l'absence totale d'agents pathogènes transmissibles. Tous les prélèvements et matériaux utilisés pour ce test doivent être considérés comme des matières infectieuses. Il est recommandé d'appliquer les mesures de précaution nécessaires (ne pas avaler ou inhaler).
- L'humidité et les fortes températures peuvent altérer les résultats du test.
- Les composants du test doivent être éliminés selon les directives locales en vigueur.

## RECUEIL, PRÉPARATION ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

### Échantillons d'urine:

- Recueillir l'échantillon d'urine dans un récipient propre et sec en plastique ou en verre ne contenant aucun conservateur. Les échantillons peuvent être recueillis à tout moment de la journée. En effet, à partir du premier jour de l'absence des règles, la concentration en hCG est si forte qu'elle est détectable à tout moment. Cependant, il est déconseillé de recueillir une urine trop diluée (suite à une forte ingestion de liquide).
- Dans le cas où le test est réalisé avant le premier jour de l'absence des règles, il est recommandé de recueillir la première urine du matin, celle-ci présentant une concentration en hCG plus élevée. Le test dont le seuil de détection est de 25 mIU/ml peut également être réalisée deux jours avant l'absence des règles. Le test dont le seuil de détection est de 10 mIU/ml peut être utilisé, au plus tôt, quatre jours avant l'absence des règles. De manière générale, plus le test est réalisé tôt plus la probabilité d'obtenir des faux négatifs est élevée (cf. paragraphe 12, "Limites du test").
- Pour garantir une exécution correcte des tests, amener les échantillons et les tests à température ambiante avant la

réalisation du test. Les échantillons d'urine présentant un précipité devraient être centrifugés ou filtrés. Il est également possible de les laisser décanter jusqu'à ce que les particules se déposent au fond du récipient. Seul le surnageant clair peut être utilisé pour le test.

- Si le test n'est pas réalisé immédiatement, les échantillons d'urine peuvent être conservés à une température comprise entre 2 et 8°C pour une durée maximale de 48 heures. Pour une conservation plus longue, congeler les échantillons à une température inférieure à -20°C.
- Les échantillons congelés devraient être décongelés et bien mélangés avant la réalisation du test. Ne pas répéter les cycles de congélation-décongélation.

### Échantillons de sérum:

- Recueillir un échantillon de sang veineux aseptiquement.
- Séparer le sérum du caillot sanguin rapidement afin d'éviter toute hémolyse. Utiliser exclusivement des échantillons clairs et non-hémolysés. Les échantillons présentant des particules solides devraient être centrifugés avant la réalisation du test.
- Tout échantillon de sérum ictérique, lipémique, hémolytique ou contaminé peut générer des résultats faussés.
- C'est pourquoi il est fortement recommandé de réaliser le test immédiatement après le recueil des échantillons. Ne pas laisser les échantillons trop longtemps à température ambiante. Les échantillons de sérum peuvent être conservés à une température comprise entre 2 et 8°C pour une durée maximale de 3 jours. Pour une conservation plus longue, congeler les échantillons à une température inférieure à -20°C.
- Amener tous les échantillons à température ambiante avant la réalisation du test. Les échantillons congelés devraient être décongelés et bien mélangés avant la réalisation du test. Ne pas répéter les cycles de congélation-décongélation.

## EXÉCUTION DU TEST

### Amener tous les tests et les échantillons à température ambiante avant la réalisation du test (15-30°C).

1. Retirer la cassette de son emballage d'origine et déposer la cassette sur une surface plane et propre. Indiquer sur la cassette les identifiants du patient et du contrôle. Pour garantir la fiabilité des résultats, il est conseillé de réaliser le test rapidement.
2. Tenir la pipette à la verticale et déposer 3 gouttes (env. 120 µl) de l'échantillon dans le puits de dépôt (S) de la cassette. Démarrer le chronomètre.  
Utiliser une nouvelle pipette pour chaque échantillon.  
Éviter toute formation de bulles d'air dans les puits de dépôt de la cassette et ne pas



déposer de solution dans la fenêtre de résultats.

Au début du test, un liquide coloré migre le long de la membrane.

3. Attendre que la ou les lignes colorées apparaissent.

Temps de lecture des tests:

Pour les tests pouvant être réalisés avec des échantillons d'urine et de sérum, les résultats peuvent être lus 5 minutes après le dépôt des échantillons. Cependant, il est possible que les échantillons qui présentent une forte concentration en hCG génèrent un résultat positif dès 3 minutes.

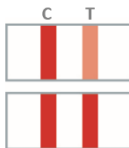
Pour tous les tests, les résultats ne devraient pas être lus après 5 minutes.

**Remarque:** Si les résultats sont lus trop tard, le risque de faux positif est élevé. En effet, un temps d'incubation trop long permet une détection de faibles concentrations en hCG. Il est donc possible que des concentrations basales de femmes non enceintes ou de femmes ménopausées soient détectées.

## INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

### Positif

Deux lignes de couleur apparaissent sur la membrane; une ligne à hauteur de la zone de contrôle (C) et une à hauteur de la zone de test (T).



### Négatif

Une ligne de couleur apparaît à hauteur de la zone de contrôle (C). Aucune ligne n'apparaît à hauteur de la zone de test (T).



### Non-valide

Aucune ligne n'apparaît à hauteur de la ligne de contrôle (C).

Il est recommandé de jeter les tests sur lesquels aucune ligne de couleur n'est apparue à hauteur de la zone de contrôle. Dans ce cas, vérifier la méthode de procédé et recommencer le test avec une nouvelle cassette. Dans le cas où le problème persiste, ne pas réutiliser le kit et se mettre en contact avec le distributeur.



### NOTE:

- L'intensité de la couleur de la ligne de test (T) peut varier selon la concentration des analytes présents dans l'échantillon. La moindre apparition d'une ligne colorée à hauteur de la zone de test (T) doit être considérée comme un résul-

tat positif. Ce test permet une détection qualitative, la concentration en analytes dans l'échantillon ne peut être déterminée.

- Un volume d'échantillon insuffisant, une mauvaise manipulation ou des tests périmés sont les principales causes d'absence de ligne de contrôle.
- Si la ligne de test (T) présente une couleur très intense, il est possible que la ligne de contrôle (C) soit très de très faible intensité. Dans ce cas, le test est tout de même considéré valide.
- Si le résultat est négatif (pour des échantillons très dilués par exemple) et que la suspicion de grossesse persiste, il est recommandé de recommencer le test après 48 à 72 heures ou de réaliser un test quantitatif. En effet, il est possible que la concentration en hCG ne soit pas assez élevée. La première urine du matin contient la concentration en hCG la plus élevée.

## CONTRÔLE QUALITÉ

La cassette contient une procédure de contrôle interne.

La ligne colorée apparaissant au niveau de la zone de contrôle (C) est considérée comme un contrôle interne. Cette ligne confirme que le volume d'échantillon était suffisant, que la manipulation a été correctement effectuée et que la membrane a été suffisamment imbibée.

Les *Bonnes Pratiques de Laboratoire* (BPL) recommandent l'utilisation de matériel de contrôle afin de confirmer la fiabilité du test.

## LIMITES DU TEST

- Le test Hitado hcg combo est réservé au diagnostic *in-vitro* professionnel et à la détection qualitative de gonadotrophine chorionique humaine (hCG).
- Il est possible que les échantillons d'urine très dilués, présentant une densité très faible, contiennent une concentration en hCG non-représentative. Si le résultat du test est négatif et que la suspicion de grossesse persiste, il est recommandé de recommencer le test après 48 à 72 heures en utilisant la première urine du matin.
- Si le test est réalisé avant le premier jour de l'absence des règles, il est probable que le test génère des faux négatifs. Ce phénomène dépend fortement des variations de concentration en hCG différentes chez chaque femme. Si le test dont le seuil de détection est de 10 mIU/ml est utilisé quatre jours avant l'absence des règles, seuls 53 à 74% des grossesses seront détectées sur des échantillons d'urine (Littérature). Si une suspicion de grossesse persiste, recommencer le test plus tard avec la première urine du matin. Il est également possible de mesurer la concentration en hCG à l'aide d'une méthode alternative (sensible quantitative par exemple.)





- La hCG n'est, de manière générale, pas détectée par le test Hitado hcg combo chez les hommes en bonne santé et fertiles et chez les femmes en bonne santé et non-enceintes. Pendant la ménopause, les valeurs basales en hCG augmentent, entraînant la possible apparition de résultats faussement positifs avec le test au seuil de détection 10 mIU/ml.
- Peu de temps après la nidation dans l'utérus, de très faibles concentrations en hCG (<50 mIU/mL) sont présentes dans l'urine. Cependant, un nombre considérable de grossesse prend fin durant les trois premiers mois pour des raisons naturelles, il est recommandé de confirmer les résultats faiblement positifs à l'aide d'autres méthodes cliniques. Le test doit être réitéré ultérieurement avec un échantillon de la première urine du matin. Un deuxième test devrait fournir un test clairement positif.
- Un résultat négatif lors du renouvellement du test avec un échantillon de la première urine du matin peut être dû à une interruption spontanée de la grossesse. 22% des grossesses non détectées cliniquement se terminent par une fausse couche précoce sans être remarquée et perçue comme des règles légèrement en retard.
- D'autres facteurs peuvent être à l'origine d'une augmentation de la concentration en hCG générant un résultat positif du test, comme par exemple les maladies trophoblastiques, la grossesse molaire, le choriocarcinome, la tumeur testiculaire, le cancer de la prostate, le cancer du poumon ainsi que tous les médicaments à base de hCG.
- Les infections urogénitales peuvent être à l'origine d'un résultat de tests faussement positif. Les signes d'une infection urogénitale sont divers: concentration élevée de leucocytes, valeur pH basique, une concentration élevée de nitrite, érythrocyte, ou de protéine. Si une infection urogénitale est soupçonnée, réaliser une analyse urinaire à l'aide de bandelettes ou de frottis spécifiques. Les échantillons d'urine suspects devraient être analysés avec des analyses de laboratoire. Si un résultat positif est généré par le test, une grossesse ne devrait pas être diagnostiquée jusqu'à ce que toutes les options listées ci-dessus n'aient été exclues.
- Les tests sont calibrés pour une hCG calibrée. Les concentrations en hCG intactes et autres formes d'hCG dans le sérum et dans l'urine peuvent différer selon le stade de la grossesse. Au début de la grossesse, la concentration en hCG est très faible, des résultats contradictoires peuvent apparaître avec les deux matrices. Il est également possible que les tests détectant la bêta-hCG fournissent des résultats contradictoires.
- Pour les échantillons d'urine: À un stade avancé de la grossesse (5-8 semaines), il peut arriver que des quantités élevées de fragments hCG-beta-core soient détectées dans les urines. Ceci peut gêner la réaction et être à l'origine de faux-négatifs malgré une forte concentration en hCG. [7]
- Pour les échantillons de sérum: Comme avec tous les tests de détection utilisant des anticorps anti-souris, il est pos-

sible que les anticorps anti-souris (HAMA) interfèrent avec l'échantillon. Les échantillons de patients ayant reçu une préparation contenant des anticorps monoclonaux au bien d'un diagnostic ou d'une thérapie, peuvent contenir des HAMA (substances immunologiques interférentes). Ces échantillons peuvent générer des faux-positifs ou des faux-négatifs. Les anticorps hétérophiles contenus dans le sérum peuvent générer des résultats faussés.

- Un diagnostic clinique définitif ne devrait pas s'appuyer sur les résultats d'un seul test. Le diagnostic devrait être établi par un médecin après évaluation de toutes les données de laboratoire et cliniques.

#### Résultats attendus:

La mesure de référence (sérum, 97,5 centiles, beta-hCG) chez les femmes en bonne santé et non-enceintes est de <3 mIU/ml. Cette valeur est <5 mIU/ml chez les femmes post-ménopausées. Cette source bibliographique indique même des valeurs plus élevées. La concentration en hCG augmente très rapidement après la fécondation, de manière à ce que des valeurs  $\geq 10$  mIU/ml sont présentes dès 10 jours après la fécondation (4 jours avant l'absence des règles). Le temps de doublement varie selon le déroulement de la grossesse. Il est de 2,5 jours en début de grossesse. L'urine est une matrice qui présente une forte variation individuelle, notamment selon l'ingestion de liquide. Pendant le premier trimestre de la grossesse, des concentrations situées entre 30 000 et 290.000 mIU/ml sont observées. Ces valeurs chutent entre 45.000-100.000 mIU/ml pendant les 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> trimestres. Après l'accouchement, les valeurs en hCG dans le sérum chutent et ne sont plus du tout détectables au bout de 11 à 17 jours. [1], [6]

#### PERFORMANCE DU TEST

##### Seuil de détection et plage de mesure

Le plus sensible des tests Hitado hcg combo présente un seuil de détection supérieur est de 25 mIU/ml (Standardisé avec la 4<sup>ème</sup> Préparation Internationale de Référence). Le test Hitado hcg combo ne présente aucun effet prozone jusqu'à une concentration 600 000 mIU/ml.

##### Spécificité analytique:

##### Réactions croisées

L'étude sur la réaction croisée a été réalisée avec des hormones de structures voisines: hLH (300 mIU/ml), hFSH (1000 mIU/ml) et hTSH (1 mIU/ml). Le test Hitado hcg combo n'a pas montré de réactions croisées. Les concentrations utilisées sont plus élevées que les valeurs physiologiques maximales attendues chez une femme en bonne santé.

**REF** HI-307-35300601

## Interférences

Des échantillons d'urine exempts de hCG et des échantillons d'urine au seuil de détection ont été mélangés à de nombreuses substances. Les résultats des tests n'ont été altérés par aucune de ces substances.

Substances	Concentration
Acétaminophène	0,2 mg/ml
Acide acétylsalicylique	0,2 mg/ml
Acide ascorbique	0,2 mg/ml
Atropine	0,2 mg/ml
Bilirubine	0,2 mg/ml
EDTA	0,2 mg/ml
Éthanol	1,0 %
Cafféine	0,2 mg/ml
Acide gentisique	0,2 mg/ml
Glucose	20 mg/ml
Hémoglobine	10 µg/ml
Carbamide	20 mg/ml
Acide urique	0,2 mg/ml
Créatine	0,2 mg/ml
Acide oxalique	0,4 mg/ml
THC	0,1 mg/ml

## Performance du test

Lors d'études cliniques, des échantillons cliniques ont été testés avec le tests Hitado hcg combo, avec d'autres tests rapides aux seuils de détection identiques, et avec une méthode enzymatique (EIA). La performance diagnostique relative a été calculée à l'aide des résultats. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant:

### Echantillon: Urine

Hitado hcg combo		EIA		
		Positif	Négatif	Total
	Positif	130	0	130
	Négatif	0	178	178
	Total	130	178	308

Sensibilité diagnostique relative >99,9%

Spécificité diagnostique relative: >99,9%

Concordance générale : >99,9%

### Echantillon: Sérum

Hitado hcg combo		EIA		
		Positif	Négatif	Total
	Positif	169	0	169
	Négatif	0	250	250
	Total	169	250	419

Sensibilité diagnostique relative: >99,9%

Spécificité diagnostique relative: >99,9%

Concordance générale : >99,9%

## BIBLIOGRAPHIE

- 1.Ed. Lothar Thomas, Labor und Diagnose (8th Edition, 2012) TH Books, Chapter 38.3, 1859 ff
2. Butler SA et al. (2001) Detection of Early Pregnancy Forms of Human Chorionic Gonadotropin by Home Pregnancy Test Devices, Clinical Chemistry 47(12): 2131-2136
3. Lenton EA et al. (1982) Plasma concentrations of human chorionic gonadotropin from the time of implantation until the second week of pregnancy, Fertility and Sterility, 37(6): 773-778
4. Fritz MA et al. (1987) Doubling time of human chorionic gonadotropin (hCG) in early normal pregnancy: relationship to hCG concentration and gestational age, Fertility and Sterility, 47(4): 584-589
5. Stenman U-H et al. (2006) The classification, functions and clinical use of different isoforms of HCG, Human Reproduction Update 12(6): 769-84
6. <http://americanpregnancy.org/while-pregnant/hcg-levels-from-15-8-19>, 2:08 pm
7. Gronowski AM et al. (2009) False-Negative Results in Point-of-Care Qualitative Human Chorionic Gonadotropin (hCG) Devices Due to Excess hCGβ Core Fragment, Clinical Chemistry, 55 (7): 1389-1394
8. Gronowski AM et al (2009) False-Negative Results from Point-of-Care Qualitative Human Chorionic Gonadotropin (hCG) Devices Caused by Excess hCG Core Fragment Vary with Device Lot Number; Clin Chem 55:10, 1885-1886

Symbole	Significatif
	Conformité aux normes européennes
	Consulter la notice d'utilisation
	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Limites de température
	Code du lot
	Ne pas réutiliser
	Utiliser jusqu'au
	Référence du catalogue
	Fabricant
	Suffisant pour "n" tests

## Test per la messa in evidenza dell'ormone della gravidanza hCG nei campioni urinari o sierici

Solo per la diagnostica professionale *in vitro*



### SCOPO DEL TEST

Il test Hitado hcg combo è un immunodosaggio visivo, rapido per l'individuazione qualitativa, presumibile della gonadotropina corionica umana (hCG) in campioni di urina umana oppure siero. Il test è concepito come supporto nella diagnosi preliminare di una gravidanza ed è concepito solo per uso professionale.

### INTRODUZIONE E SIGNIFICATO CLINICO

La gonadotropina corionica umana (hCG) è un ormone glicoproteico prodotto dalla placenta poco dopo la fecondazione e può essere rilevato già negli stadi iniziali della gravidanza in urina e siero.

Nelle gravidanze normali, l'hCG può essere rilevato sia nel siero che nell'urina già 7 giorni dopo il concepimento. Il livello di hCG continua ad aumentare molto rapidamente, spesso superando i 50 mIU/ml dal primo ciclo mestruale mancato per arrivare al culmine tra la 10 e la 12 settimana di gravidanza oscillando tra 30,000 e 290,000 mIU/ml.

La comparsa di hCG nell'urina e nel sangue poco dopo il concepimento ed il successivo rapido aumento della sua concentrazione lo rendono il marker ideale per la diagnosi preliminare di gravidanza.

Livelli elevati di hCG però, possono essere associati a mola idatiforme oppure carcinoma. Pertanto, prima di emettere la diagnosi di una gravidanza sarà bene escludere tali possibilità.

Il test Hitado hcg combo è un immunodosaggio visivo, rapido per la rilevazione di hCG ad una concentrazione di 25 mIU/ml in urina o siero.

Il test utilizza anticorpi anti-hCG per rilevare l'hCG nell'urina (oppure siero). La specificità di questa reazione immune esclude reattività incrociata con gli ormoni strutturalmente legati (hFSH, hLH e hTSH) fino ai massimi livelli fisiologici anticipati.

### PRINCIPIO DEL TEST

Il test Hitado hcg combo rileva la gonadotropina corionica umana attraverso l'interpretazione visiva dello sviluppo di colore sulla striscia interna del test. Gli anticorpi anti-hCG sono immobilizzati sulla regione della linea del test. Gli anticorpi anti-topo sono immobilizzati sulla regione della linea di controllo. Durante il test, il campione reagisce con gli anticorpi anti-hCG coniugati a particelle colorate che rivestono il tampone coniugato della membrana. Il composto migra poi lungo la membrana per azione capillare e va ad interagire

con i reagenti presenti sulla membrana. Se nel campione è presente una quantità sufficiente di hCG, si sviluppa una linea colorata nella regione della linea del test sulla membrana. La presenza di questa linea colorata nella regione del test indica un risultato positivo mentre la sua assenza è indice di un risultato negativo.

La presenza di una linea colorata nella regione della linea di controllo (C) funge da controllo procedurale interno indicando che è stato utilizzato il corretto volume di campione e che la migrazione sulla membrana è avvenuta correttamente.

### REAGENTI E MATERIALI FORNITI

- 25 test a cassetta Hitado hcg combo (pipette monouso incluse)
- 1 istruzioni per l'uso

### ALTRI MATERIALI RICHIESTI

- Contenitore di raccolta del campione
- Timer

### CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Il kit di test va conservato a 2-30°C fino alla data di scadenza riportata sulla confezione. I test vanno conservati nella loro confezione fino all'utilizzo. Non congelare.

Prevenire la contaminazione dei componenti del kit di test. Non utilizzare in caso di evidente contaminazione microbica o deterioramento. La contaminazione biologica delle pipette, dei contenitori di raccolta del campione oppure dei reagenti può portare a risultati inaccurati.

### AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Esclusivamente per uso diagnostico professionale *in-vitro*.
- Leggere attentamente la procedura del test prima di eseguirlo.
- Non utilizzare il test oltre la data di scadenza riportata sulla confezione.
- Non utilizzare il test se la confezione dovesse risultare danneggiata.
- Non riutilizzare i test.
- Non aggiungere i campioni all'area di risultato (result area).
- Al fine di evitare la contaminazione non toccare l'area di risultato (result area).
- Utilizzare esclusivamente campioni di urina o campioni di siero e nessun altro liquido.

- Portare i componenti del test ed i campioni a temperatura ambiente (15-30°C) prima di eseguire il test.
- Evitare il rischio di contaminazione incrociata utilizzando sempre un nuovo contenitore di raccolta per ogni campione.
- Non mangiare, bere o fumare nei luoghi in cui vengono trattati i campioni ed i test.
- Indossare abiti protettivi quali camici da laboratorio, guanti monouso ed occhiali protettivi quando vengono trattati i campioni.
- Considerare tutti i campioni come potenzialmente infettivi. Osservare le normali precauzioni contro rischi microbiologici e seguire le procedure standard per il corretto smaltimento dei campioni.
- Il kit fornito contiene prodotti di origine animale. La conoscenza certificata della provenienza e/o condizione sanitaria degli animali non esclude del tutto l'assenza di agenti patogeni trasmissibili. Si raccomanda, pertanto, che questi prodotti vengano trattati come potenzialmente infettivi ed utilizzati nel rispetto delle normali pratiche di sicurezza (ad esempio, non ingerire o inalare).
- Umidità o temperature elevate possono influenzare in maniera negativa i risultati del test.
- I materiali utilizzati nello svolgimento del test vanno smaltiti nel rispetto delle regolamentazioni locali.

## PREPARAZIONE E RACCOLTA DEL CAMPIONE

### Campioni di Urina:

- Raccogliere il campione di urina in un contenitore di raccolta del campione asciutto e pulito di plastica o vetro senza conservanti. Fin dal primo giorno di ciclo mancato i livelli di hCG sono generalmente così alti che possono essere utilizzati i campioni di urina raccolti in qualsiasi momento della giornata. In ogni caso, evitare di assumere grosse quantità di liquidi (effetto di diluizione).
- Se il test viene utilizzato ancora prima, allora preferire l'urina delle prime ore del mattino che generalmente contiene la concentrazione più alta di hCG. Per i test con un livello di cut-off pari a 25 mIU/ml, il test andrebbe condotto 2 giorni prima del ciclo mestruale atteso. Per i test con un livello di cut-off pari a 10 mIU/ml, il primo momento possibile per l'esecuzione del test è 4 giorni prima del ciclo mestruale atteso. Comunque, il rischio di risultati falsi negativi aumenta in base a quanto presto viene fatto il test (vedere il punto 12 'Limiti del Test').
- I campioni ed i test vanno portati a temperatura ambiente per il corretto svolgimento della procedura del test. I campioni di urina che contengono precipitati visibili ad occhio nudo vanno centrifugati, filtrati o lasciati depositare per ottenere un supernatante chiaro necessario per il test. Per eseguire il test, utilizzare solo supernatanti chiari.
- Se il test non viene eseguito immediatamente, conservati al fresco i campioni di urina a 2-8°C per un massimo di 48

ore. Per conservazioni prolungate, i campioni vanno conservati a -20°C.

- Prima di eseguire il test, i campioni congelati vanno fatti scongelare completamente e mescolati bene. Evitare episodi ripetuti di congelamento e scongelamento dei campioni.

### Campioni di siero:

- Raccogliere il campione di sangue attraverso prelievo venoso.
- Per evitare emolisi, separare il siero il prima possibile. Utilizzare solo campioni chiari non emolizzati. I campioni contenenti particelle visibili dovrebbero essere chiarificati tramite centrifuga prima del test.
- Campioni di siero itterici, lipemici, emolizzati e contaminati possono portare a risultati scorretti.
- Eseguire il test immediatamente dopo la raccolta del campione. Non lasciare il test a temperatura ambiente per lunghi periodi di tempo. Campioni di siero possono essere conservati tra 2-8°C fino a 3 giorni. Per conservazioni prolungate, i campioni vanno conservati a -20°C.
- Portare i campioni a temperatura ambiente prima di eseguire il test. Prima di eseguire il test, i campioni congelati vanno fatti scongelare completamente e mescolati bene. Evitare episodi ripetuti di congelamento e scongelamento dei campioni.

## PROCEDURA DEL TEST

### Portare i test ed i campioni a temperatura ambiente (15-30°C) prima di eseguire il test.

1. Rimuovere il test a cassetta dalla confezione ed utilizzarlo nel più breve tempo possibile. Etichettare il test con il nome del paziente o il numero identificativo corrispondente. Per ottenere i risultati migliori, il test dovrebbe essere eseguito immediatamente.
2. Mantenendo la pipetta verticalmente, aggiungere 3 gocce di campione (circa 120 µL) direttamente al pozzetto di raccolta del campione (S) del test a cassetta. Avviare il timer.



oppure



Nel caso venga utilizzata una micropipetta, utilizzarne una nuova per ogni campione.

Evitare la formazione di bolle d'aria nel pozzetto di raccolta del campione (S) ed evitare l'aggiunta di qualsiasi soluzione nell'area del risultato.

Quando il test comincia a funzionare, potrete osservare un liquido colorato migrare lungo la membrana.

3. Attendere la comparsa delle linee colorate. Tempo di lettura: Per i test utilizzati con campioni di urina oppure siero, il risultato andrebbe letto 5 minuti dopo



5 min

l'aggiunta del campione, anche se campioni contenenti alte quantità di hCG potrebbero mostrare risultati positivi già dopo soli 3 minuti.

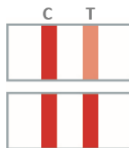
Per tutti i test, il tempo di lettura non dovrebbe comunque superare i 5 minuti.

**Nota bene:** Un tempo di lettura prolungato il rischio di falsi risultati positivamente datato che basse concentrazioni di hCG in aumentosono rilevate dopo un periodo di incubazione prolunga. Come risultato, in casi rari, anche concentrazioni basali di donne non incinte, soprattutto donne in menopausa possono essere rilevate.

### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

#### Positivo:

Compaiono due linee colorate sulla membrana. Una linea in corrispondenza della regione di controllo (C) e l'altra in corrispondenza della regione del test (T).



#### Negativo:

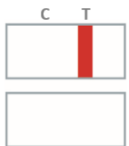
Compare solo una linea colorata nella zona di controllo (C). Non compare alcuna linea colorata nella zona del test (T).



#### Non valido:

La linea di controllo (C) non compare.

Risultati provenienti da test che entro il tempo di lettura necessario non abbiano prodotto una linea di controllo non vanno presi in considerazione. Si consiglia di rivedere la procedura e ripetere il test con un nuovo dispositivo. Se il problema persiste, si consiglia di interrompere immediatamente l'utilizzo dello stesso lotto di test e contattare il proprio distributore.



#### Nota bene:

- L'intensità della linea del test nella regione della linea del test (T) varia in base alla concentrazione degli analiti presenti nel campione. Pertanto, qualsiasi sfumatura di colore nell'area della linea del test (T) va considerata come indicativa di risultato positivo. Questo è un test qualitativo ed in quanto tale non può essere utilizzato per determinare la concentrazione degli analiti nel campione.
- Un volume insufficiente di campione, procedure operative scorrette o test scaduti sono tra le principali cause che potrebbero impedire la comparsa della linea di controllo.
- In caso di una linea del test (T) molto forte, la linea di controllo (C) può risultare sbiadita. Il risultato del test va comunque considerato positivo.

- In caso di un risultato negativo (possibilmente dovuto ad un campione molto diluito) dove c'è comunque il sospetto di una gravidanza, il test andrebbe ripetuto dopo 48-72 ore o in aggiunta andrebbe eseguito un test quantitativo visto che la concentrazione di hCG potrebbe non essere abbastanza elevata. La prima urina del mattino contiene la concentrazione più elevata di hCG.

### CONTROLLO QUALITÀ

Un controllo procedurale interno è inserito nel test a cassetta:

La linea colorata che compare in corrispondenza della regione della linea di controllo (C) è da considerarsi un controllo procedurale interno. Ciò conferma che è stato aggiunto il giusto volume di campione, che la migrazione lungo la membrana è avvenuta correttamente e che sono state applicate le corrette tecniche procedurali.

La *Buona Pratica di Laboratorio* (GLP) raccomanda l'impiego di metodi di controllo al fine di confermare la corretta performance del kit di test.

### LIMITI DEL TEST

- I test Hitado hcg combo sono concepiti per uso diagnostico professionale *in-vitro* e dovrebbero essere impiegati esclusivamente per l'individuazione qualitativa della gonadotropina corionica umana (hCG).
- Campioni di urina molto diluiti, mostrano una gravità specifica bassa e potrebbero non contenere livelli sufficienti di hCG. In caso di risultato negativo ma se il sospetto di gravidanza è ancora attuale, si consiglia di ripetere il test dopo 48-72 ore utilizzando la prima urina del mattino.
- Se i test vengono utilizzati prima del primo giorno del ciclo mestruale mancato c'è il rischio che si verifichino risultati falsi negativi dovuti alla fluttuazione individuale di hCG. In base a quanto noto, se i test da 10 mIU/ml sono utilizzati 4 giorni prima del ciclo mestruale atteso, solo circa il 53-74% delle gravidanze sarà rilevato utilizzando campioni di urina. Se il sospetto di una gravidanza rimane, si dovrebbe allora ripetere il test in un momento successivo utilizzando il campione di urina del mattino. In alternativa, la concentrazione di hCG può essere rilevata utilizzando un metodo quantitativo più sensibile.
- In uomini sani e in donne sane, fertili e non incinte non è possibile rilevare hCG utilizzando i test Hitado hcg combo. I valori basali di hCG aumentano in menopausa così che in casi rari, soprattutto con i test da 10 mIU/ml potrebbero verificarsi dei falsi risultati positivi.
- Livelli molto bassi di hCG (<50 mIU/mL) sono presenti nell'urina oppure nel siero poco dopo l'impianto di un ovulo fertilizzato nell'utero. Comunque, dato che un numero significativo di gravidanze termina nel primo trimestre per via di aborti naturali, un risultato del test che sia

leggermente positivo andrebbe verificato utilizzando altri metodi clinici. Se necessario, il test andrebbe ripetuto nuovamente utilizzando la prima urina del mattino ad uno stadio un po' più avanzato. Il risultato del test ripetuto dovrebbe essere chiaramente positivo.

- Se, dopo un risultato debolmente positivo, il risultato del test ripetuto utilizzando la prima urina del mattino dovesse essere negativo, la causa potrebbe risiedere in un aborto spontaneo. Circa il 22% delle gravidanze non rilevate clinicamente si termina con un aborto inosservato e vengono percepite come un leggero ritardo del ciclo mestruale.
- Una serie di condizioni diverse dalla gravidanza, incluse malattia trofoblastica quali gravidanze molar, carcinoma, tumori testicolari, cancro alla prostata e cancro al polmone così come i medicinali contenenti hCG causano elevati livelli di hCG che possono essere identificati come positivi dal test.
- Anche infezioni genito-urinarie possono condurre ad un risultato positivo del test. Un numero elevato di leucociti, un pH basico, un aumento di nitriti, eritrociti e proteine nelle urine sono alcuni degli indicatori di infezioni genito-urinarie. In caso di sospetto, verificare attraverso analisi delle urine oppure tamponi specifici. Campioni di urina molto sospetti andrebbero verificati in laboratorio. In caso di risultato positivo, non bisognerebbe emettere una diagnosi di gravidanza se prima non sono state escluse le possibilità menzionate sopra.
- I test sono calibrati per hCG intatto. Le porzioni di hCG intatto ed altre forme di hCG nel siero e nell'urina potrebbero differire a seconda dello stadio della gravidanza. Soprattutto all'inizio della gravidanza, quando i valori di hCG sono ancora bassi, ciò può portare in rari casi a risultati fuorvianti per entrambe i tipi di campione. Raramente, all'inizio della gravidanza, risultati fuorvianti possono essere osservati con test basati sulla rilevazione di beta-hCG.
- Per campioni di urina: Raramente, ad uno stadio più avanzato della gravidanza, (circa 5-8 settimane di gestazione), possono essere presenti nel campione di urina quantità maggiori di frammenti di hCG-beta-core intralciando la rilevazione della reazione e portando a falsi negativi nonostante l'elevata concentrazione di hCG. [7]
- Per i campioni di siero: Come per tutti i saggi che utilizzano anticorpi anti-topo, c'è la possibilità di interferenza con gli anticorpi anti-topo (HAMA) nel campione. I campioni provenienti da pazienti che abbiano ricevuto preparazioni di anticorpi monoclonali per la diagnosi o per la terapia potrebbero contenere HAMA (sostanze immunologicamente interferenti). Tali campioni possono causare risultati falsi positivi o falsi negativi. Anche gli anticorpi eterofili nel siero possono causare risultati erronei.
- Come per tutti i test diagnostici, la diagnosi finale non dovrebbe basarsi esclusivamente sui risultati di un singolo test ma dovrebbe essere elaborata dal medico solo dopo la valutazione di tutte le analisi cliniche e di laboratorio con-

dotte. Pertanto, si raccomanda di confermare i risultati ottenuti con un altro metodo di analisi o interpretarli in congiunzione con i dati clinici.

#### Risultati attesi:

Il parametro di riferimento (siero, 97,5 percentili, beta hCG) per una donna sana, fertile e non incinta è <3 mIU/ml. Nelle donne in post menopausa questo valore aumenta fino a <5 mIU/ml. Comunque, alcuni valori isolati più alti possono essere trovati in altre letterature. Dopo la fecondazione c'è un aumento consistente così che circa 10 giorni dopo la fecondazione (4 giorni prima del ciclo mestruale saltato), si raggiungono spesso valori pari a  $\geq 10$  mIU/ml. Il raddoppio dei valori varia durante la gravidanza ed è di circa 2,5 giorni all'inizio della gravidanza. A causa della grande differenza nell'assorbimento dei liquidi c'è una elevata variabilità individuale per le concentrazioni di hCG nell'urina. Nel corso del primo trimestre, vengono determinate le concentrazioni a 30,000-290,000, che poi diminuiscono nel II e III trimestre a valori quali 45,000-100,000 mIU/ml. Dopo il parto, i valori di hCG diminuiscono e non sono più rilevabili per circa 11-17 giorni. [1], [6]

#### CARATTERISTICHE TECNICHE

##### Limiti di rilevazione e intervallo di misurazione

Il limite di rilevazione più basso dei test Hitado hcg combo è fissato a 25 mIU/ml (Calibrazione con il 4th IRP di hCG). I test Hitado hcg combo non mostrano alcun effetto prozona fino ad una concentrazione massima di 600,000 mIU/ml.

##### Specificità analitica

##### Reattività incrociata

In uno studio sulla reattività incrociata con gli ormoni stutturalmente legati hLH (300 mIU/ml), hFSH (1000 mIU/ml) e hTSH (1 mIU/ml), il test Hitado hcg combo non ha mostrato alcuna reattività incrociata. Le concentrazioni usate sono più alte dei valori massimi fisiologicamente attesi in una donna sana.

##### Interferenza

Campioni di urina senza hCG e campioni di urina limiti contenenti concentrazioni di hCG al limite di rilevazione sono stati adulterati con numerose sostanze. Nessuna delle sostanze ha interferito con la comparsa del risultato.

Sostanza	Concentrazione
Acetaminofene	0.2 mg/ml
acido acetilsalicilico	0.2 mg/ml
acido Ascorbico	0.2 mg/ml
Atropina	0.2 mg/ml
Bilirubina	0.2 mg/ml
EDTA	0.2 mg/ml
Etanolo	1,0%
Caffeina	0.2 mg/ml
Acido Gentisico	0.2 mg/ml
Glucosio	20 mg/ml
Emoglobina	10 µg/ml
Urea	20 mg/ml
acido Urico	0.2 mg/ml
Creatinina	0.2 mg/ml
Acido Ossalico	0.4 mg/ml
THC	0.1 mg/ml

### Caratteristiche Performance Diagnostica

I test Hitado hcg combo sono stati testati in studi clinici con campioni clinici in comparazione con un altro test rapido con lo stesso livello di cut-off immunodosaggio enzimatico (EIA). Le relative caratteristiche della performance diagnostica sono state calcolate sulla base dei risultati. I risultati sono riassunti nella seguente tabella.

#### campione: urina

test Hitado hcg combo		EIA		
		Positivo	Negativo	Totale
	Positivo	130	0	130
	Negativo	0	178	178
	Totale	130	178	308

Sensibilità diagnostica relativa: >99,9%

Specificità diagnostica relativa: >99,9%

Andamento complessivo: >99,9%

#### campione: siero

test Hitado hcg combo		EIA		
		Positivo	Negativo	Totale
	Positivo	169	0	169
	Negativo	0	250	250
	Totale	169	250	419











Sensibilità diagnostica relativa: >99,9%

Specificità diagnostica relativa: >99,9%

Andamento complessivo: >99,9%

### BIBLIOGRAFIA

- 1.Ed. Lothar Thomas, Labor und Diagnose (8th Edition, 2012) TH Books, Chapter 38.3, 1859 ff
2. Butler SA et al. (2001) Detection of Early Pregnancy Forms of Human Chorionic Gonadotropin by Home Pregnancy Test Devices, Clinical Chemistry 47(12): 2131-2136
3. Lenton EA et al. (1982) Plasma concentrations of human chorionic gonadotropin from the time of implantation until the second week of pregnancy, Fertility and Sterility, 37(6): 773-778
4. Fritz MA et al. (1987) Doubling time of human chorionic gonadotropin (hCG) in early normal pregnancy: relationship to hCG concentration and gestational age, Fertility and Sterility, 47(4): 584-589
5. Stenman U-H et al. (2006) The classification, functions and clinical use of different isoforms of hCG, Human Reproduction Update 12(6): 769-84
6. <http://americanpregnancy.org/while-pregnant/hcg-levels/from-15-8-19,2:08pm>
7. Gronowski AM et al. (2009) False-Negative Results in Point-of-Care Qualitative Human Chorionic Gonadotropin (hCG) Devices Due to Excess hCGβ Core Fragment, Clinical Chemistry, 55 (7): 1389-1394
8. Gronowski AM et al. (2009) False-Negative Results from Point-of-Care Qualitative Human Chorionic Gonadotropin (hCG) Devices Caused by Excess hCG Core Fragment Vary with Device Lot Number; Clin Chem 55:10, 1885-1886

Simbolo	Significato
	Conformità europea
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Limiti di temperatura
	Codice lotto
	Non riutilizzare
	Utilizzare entro
	Riferimento di Catalogo
	Fabbricante
	Sufficiente per "n" saggi