

CanAg ACE (CEA) EIA

Prod. No. 401-10

Instructions d'utilisation

2009-11

Kit de Test immunoenzymatique

Pour 96 déterminations

UTILISATION

Le Kit CanAg ACE EIA est destiné à la détermination quantitative de l'antigène associé du cancer, ACE, dans le sérum.

RESUME ET EXPLICATION DU TEST

L'Antigène Carcino Embryonnaire (ACE) est une glycoprotéine, qui a été identifié pour la première fois chez des patients avec un carcinome du colon et dans des tumeurs épithéliales d'origine endodermique (appareil gastro-intestinal) par Gold et Freedman (1). La molécule ACE est assez hétérogène à cause de son contenu en carbo-hydrates (50-60%) et suivant la procédure de purification employée. Elle est soluble dans l'acide perchlorique et a un poids moléculaire autour de 175.000–200.000 Daltons (2). La caractérisation Immunologique et Génétique de ACE a identifié une famille de molécules ACE-similaires partageant des déterminants antigéniques communs. La plus pertinente des molécules ACE-similaires est l'ANC (Antigène de réaction Croisée Non-spécifique) synthétisée à la fois par les tissus normaux et pathologiques. Le problème des molécules ACE-similaires de réaction croisée, lors des tests, peut être dépassé, en utilisant des anticorps monoclonaux. Le Test CanAg ACE EIA est basé sur deux anticorps monoclonaux de souris contre les épitopes Gold IV et V (3, 4).

ACE est sécrété des cellules de tumeur et est largement utilisé comme marqueur sérologique des carcinomes gastro-intestinaux, du cancer du poumon et du cancer du sein. Dans le cancer colorectal, l'utilisation clinique du Test ACE, pour suivre la réponse à une thérapie et pour documenter la progression de la maladie, est bien établie (5, 6). ACE peut-être aussi présent dans les maladies inflammatoires bénignes gastro-intestinales ou dans les maladies hépato-biliaires. Ces observations sont nécessaire pour souligner que le Test ACE ne doit pas être utilisé pour le dépistage du cancer.

PRINCIPE DU TEST

Le Test CanAg ACE EIA est en phase solide. Cet immuno test, non compétitif, est basé sur la technique sandwich directe. Les Calibreurs, les Contrôles et les échantillons de patients sont incubés, ensemble, avec un anticorps monoclonal biotinylé Anti-ACE et la peroxydase du Raifort (HRP) étiquetée anticorps monoclonal Anti-ACE, dans des barrettes micro-titres enduites de Streptavidin. Après lavage, le réactif tamponné Substrat/Chromogène (peroxyde d'hydrogène et 3, 3', 5, 5' tétra méthyle benzidine) est ajouté à chaque puits et la réaction enzymatique peut commencer. Pendant la réaction enzymatique, une couleur bleue se développe, si l'antigène est présent. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la quantité d'ACE présent dans les échantillons. L'intensité de la couleur est déterminée par un Spectrophotomètre à plaque micro-titre à 620nm (ou optionnellement à 405 nm, après addition de la Solution d'Arrêt). Les courbes de Calibrage sont construites, pour chaque test, en mettant sous forme graphique les valeurs d'absorbance, contre la concentration de chaque Calibreur. Les concentrations en ACE, des échantillons de patients, sont alors lues à partir de la courbe standard.

REACTIFS

- Chaque Kit CanAg ACE EIA contient des réactifs pour 96 tests.
- La date d'expiration du Kit est imprimée sur l'étiquette, à l'extérieur de la boîte de Kit.
- Ne pas utiliser le Kit au-delà de la date d'expiration.
- Ne pas mélanger des réactifs de différents lots de Kit.
- Conserver les Kits à +2° / +8°C. Ne pas congeler.
- Les réactifs ouverts sont stables, suivant le tableau ci-dessous, à condition qu'ils n'aient pas été contaminés, qu'ils aient été conservés dans leur conteneur d'origine fermé, qu'ils aient été manipulés comme prescrit et qu'ils aient été remis à +2° / +8°C immédiatement après usage.

Composant	Quantité	Conservation et stabilité après la première ouverture
MICROPLA		
Streptavidin	1 Plaque	+2° / +8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur la plaque
Plaque micro-titre		
12 barrettes détachables de 8 puits enduits de Streptavidin. Après ouverture, remettre immédiatement les barrettes non utilisées dans le sachet d'aluminium contenant un déshydratant et ressouder soigneusement pour les garder au sec.		

Composant	Quantité	Conservation et stabilité après la première ouverture
-----------	----------	--

Calibreurs ACE 6 flacons +2° / +8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon

CAL	CEA	0
-----	-----	---

0 µg/l 1 x 8 ml

CAL	CEA	2
-----	-----	---

2 µg/l 1 x 0.75 ml

CAL	CEA	5
-----	-----	---

5 µg/l 1 x 0.75 ml

CAL	CEA	15
-----	-----	----

15 µg/l 1 x 0.75 ml

CAL	CEA	50
-----	-----	----

50 µg/l 1 x 0.75 ml

CAL	CEA	75
-----	-----	----

75 µg/l 1 x 0.75 ml

L' ACE humain est une solution tamponnée de sel Tris-HCl contenant de la sérum albumine bovine, un colorant jaune et 0.01% de méthyle isothiazolone (MIT) comme conservateur. La solution est prête à l'emploi.

CAL	CEA	0
-----	-----	---

 doit aussi être utilisé pur diluer les échantillons.

Contrôles ACE 2 flacons +2° / +8° C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon

CONTROL	CEA	1
---------	-----	---

1 x 0.75 ml

CONTROL	CEA	2
---------	-----	---

1 x 0.75 ml

L' ACE humain est une solution tamponnée de sel Tris-HCl contenant de la sérum albumine bovine et 0.01% de méthyle isothiazolone (MIT). La solution est prête à l'emploi.

BIOTIN	Anti-CEA
--------	----------

Biotine Anti-ACE 1 x 15 ml +2° / +8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon

La Solution de Biotine Anti-ACE, anticorps monoclonal de souris, à la concentration approximative de 3 µg/ml, contient un tampon de sel Phosphate (pH7.2), de la sérum albumine bovine, de l'immunoglobuline bovine, des agents bloquants, du Tween 20, un colorant inerte bleu et 0.01% de méthyle isothiazolone (MIT) comme conservateur. La solution doit être mélangée avec la solution de Traceur HRP Anti-ACE, avant utilisation.

Composant	Quantité	Conservation et stabilité après la première ouverture
-----------	----------	--

CONJ	Anti-CEA
------	----------

Traceur, HRP Anti-ACE	1 x 0.75 ml	+2° / +8° C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon
-----------------------	-------------	--

La solution concentrée de HRP Anti-ACE, anticorps monoclonal de souris, à la concentration approximative de 60 µg/ml, contient des conservateurs. La solution doit être mélangée avec la Solution de Biotine Anti-ACE, avant utilisation.

SUBS	TMB
------	-----

Substrat-HRP TMB	1 x 12 ml	+2° / +8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon
------------------	-----------	---

La solution contient un tampon de peroxyde d'hydrogène et du 3, 3', 5, 5' tétra méthyle benzidine (TMB). La solution est prête à l'emploi.

STOP

Solution d'Arrêt	1 x 15 ml	+2° / +8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon
------------------	-----------	---

La solution est prête à l'emploi. Elle contient 0.12M d'Acide Chlorhydrique.

WASHBUF	25X
---------	-----

Solution de Lavage Concentrée	1 x 50 ml	+2° / +8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon
-------------------------------	-----------	---

Il s'agit d'une solution tampon de sel Tris-HCl avec du Tween 20. Elle contient du Germall II comme conservateur. Elle doit être diluée 25 fois avec de l'eau distillée ou désionisée avant utilisation.

Indications d'instabilité

Le Substrat-HRP TMB doit être incolore ou légèrement bleuté. Une couleur bleue indique que le réactif a été contaminé et qu'il doit être détruit.

MISE EN GARDE ET PRECAUTIONS D'EMPLOI

Pour un usage diagnostique in vitro.

- Pour un usage professionnel seulement .
- Prière de se référer à la publication N° (CDC) 88-8395 de l' US Department of Health and Human Services (Bethesda, Md., US) sur les procédures de sécurité dans les laboratoires ou tout autres réglementations locales ou nationales.
- Manipuler les échantillons de patients comme potentiellement infectieux.
- Suivre les réglementations locales pour l'élimination et le traitement de tous les déchets.

Attention

Le matériel utilisé, pour la préparation du réactif d'origine humaine, a été testé et trouvé non réactif aux Anticorps VIH-1/2, aux Anticorps VHC et à l'Antigène de Surface de l'Hépatite B (AgHbs). Puisqu'il n'existe pas de méthode de test, rejetant complètement la présence de maladies dans le sang, la manipulation et l'élimination des réactifs d'origine humaine doivent être effectués comme s'ils étaient potentiellement infectieux.

PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS

Le Test CanAg ACE EIA est destiné à être utilisé avec du sérum. Prélever le sang par veinopuncture et séparer le sérum selon les procédures habituelles. Les échantillons peuvent être conservés à +2° / +8°C pendant 2 jours. Pour des périodes plus longues, conserver les échantillons à -20°C ou en dessous. Eviter les congélations répétées et la décongélation des échantillons. Il est permis de décongeler lentement, préférablement à +2° / +8°C pendant la nuit et d'amener ainsi les échantillons à température ambiante avant analyse.

MODE OPERATOIRE

Matériels nécessaires mais non fournis avec le Kit

1. Agitateur-vibreux de plaque micro-titre

L'agitation vibration doit être de moyenne à forte. L'agitation longitudinale doit être approximativement de 200 strokes/mn et les oscillations de 700 à 900 /mn.

2. Laveur de plaque micro-titre

Laveur de microplaques automatique en mesure de réaliser 1 et 6 cycles de lavage et doté d'un volume de remplissage minimum de 350 µL/puits/cycle de lavage.

Le laveur manuel de barrettes Nunc Immuno-8 est recommandé si un laveur de microplaques automatique n'est pas utilisé.

3. Spectrophotomètre de plaque micro-titre

Lecteur avec une longueur d'onde de 620 nm et/ou 405 nm et une échelle d'absorbance de 0 à 3.0

4. Pipettes de précision

Les pipettes de précision sont avec des pointes plastique jetables, pour la distribution de volumes de

l'ordre du micro litre et du millilitre. Une pipette à 8 canaux ou un distributeur avec pointes plastique jetables, pour la délivrance de volumes de 100 µl, est utile mais pas essentiel.

5. Eau Distillée ou Désionisée

Pour la préparation de la Solution de Lavage.

Notes de Procédure

1. Une compréhension complète de la Notice est nécessaire pour assurer un usage correct du Kit CanAg ACE EIA. Les réactifs, livrés dans le Kit, en font partie intégrante. Ne pas mélanger des réactifs identiques mais venant de Kits avec un numéro de lot différent. Ne pas utiliser les réactifs du Kit après la date imprimée à l'extérieur de la boîte de Kit.
2. Les réactifs doivent atteindre la température ambiante (+20°/+25°C) avant leur utilisation. Le Test doit seulement être réalisé à une température comprise entre +20°/ 25°C pour obtenir des résultats précis. Les échantillons congelés doivent être amenés à température ambiante lentement et doivent être agités, doucement mais complètement, après décongélation.
3. Avant de commencer à pipeter, les Calibreurs, les Contrôles et les échantillons de patients, il est recommandé de marquer les barrettes pour faire en sorte d'identifier clairement les échantillons pendant et après le Test.
4. La condition d'un lavage efficace et poussé requise pour séparer l'antigène et les réactifs liés et non liés des complexes anticorps-antigène liés en phase solide représente l'une des étapes les plus importantes d'un dosage immunoenzymatique. Afin d'assurer un lavage efficace, assurez-vous que: tous les puits sont complètement remplis de solution de lavage pendant chaque cycle de lavage, jusqu'à ras bord; que la solution de lavage est distribuée à un débit approprié; que l'aspiration des puits entre et après les cycles de lavage est bien complète; et que les puits sont bien vides. Si du liquide reste, renversez la plaque et tapotez légèrement dessus contre du papier absorbant.
 - Dispositif automatique de lavage de barrette: suivez les instructions du fabricant pour un nettoyage et un entretien diligents des barrettes et pour connaître le nombre de cycles de lavage requis avant et après chaque étape d'incubation. Il est vivement recommandé de suivre le mode processuel de barrette ou le mode de lavage en trop-plein avec un volume de 800 µL. Le dispositif d'aspiration/lavage ne doit pas rester avec de la solution de lavage sur des intervalles de temps prolongés parce que les aiguilles pourraient se boucher, ce qui aurait pour résultat une baisse de la distribution et de l'aspiration de liquide.
5. Le Substrat-HRP TMP est très sensible à la contamination. Pour sa stabilité optimale, transférer la quantité requise du flacon dans un récipient délicatement lavé, préférablement dans un bac jetable en plastique, pour éviter la contamination du réactif. S'assurer de l'utilisation de pipettes à pointes en plastique, propres et jetables (ou d'une pipette distributrice à pointes).
6. S'assurer de l'utilisation d'une pipette à pointes en plastique, propres et jetables et d'une technique de pipetage correct, lors de la manipulation des échantillons et des réactifs. Éviter de passer au-dessus de la plaque, en maintenant l'embout de pipette légèrement au-dessus du haut du puits et éviter de toucher la barrette plastique ou la surface du liquide. Une technique de pipetage correct, est d'une importance particulière lorsque l'on manipule la solution de Substrat-HRP TMB.

Préparation des réactifs	Stabilité des réactifs préparés
Solution de Lavage	2 semaines à +2° / +25°C dans un conteneur fermé
Transférer 50 ml de Solution Concentrée de Lavage dans un conteneur propre et diluer 25 fois en additionnant 1200 ml d'eau distillée ou désionisée pour obtenir une Solution de Lavage tamponnée.	

Solution d'Anticorps 3 semaines à +2° / +8°C

Préparer la quantité nécessaire de Solution d'Anticorps en mélangeant 50 µl de Traceur, HRP Anti-ACE, avec 1 ml de Solution de Biotine Anti-ACE, par barrette (voir le tableau ci-dessous et la Feuille de Protocole)

N°. de Barrettes	Traceur, HRP Anti-ACE (µl)	Biotine Anti-ACE (ml)
1	50	1
2	100	2
3	150	3
4	200	4
5	250	5
6	300	6
7	350	7
8	400	8
9	450	9
10	500	10
11	550	11
12	600	12

S'assurer de l'utilisation d'un flacon propre, en plastique ou en verre, pour la préparation de la Solution d'Anticorps;

Alternative: verser le contenu du Traceur, HRP Anti-ACE dans le flacon de Biotine Anti-ACE et mélanger doucement. S'assurer que tout le Traceur, HRP Anti-ACE est transféré dans le flacon de Biotine Anti-ACE.

Note : La Solution d'Anticorps est stable pendant 3 semaines à +2°/+8°C. Ne pas préparer plus de Solution d'Anticorps, qu'il ne pourra en être utilisé pendant cette période et s'assurer qu'elle sera conservée correctement.

PROCEDURE DE TEST

Réaliser chaque détermination, en double, pour à la fois les Calibreurs, les Contrôles et les échantillons de patients. Une courbe de calibrage doit être réalisée pour chaque test. Tous les réactifs et les échantillons doivent être amenés à température ambiante (+20°/+25°C) avant utilisation.

1. Commencer par la préparation de la Solution de Lavage et de la Solution d'Anticorps. Il est important d'utiliser des conteneurs propres et de suivre les instructions soigneusement.
2. Transférer le nombre requis de barrettes de plaque micro-titre sur un portoir à barrettes (Remettre immédiatement le reste des barrettes dans le sachet d'aluminium contenant le déshydratant et ressouder soigneusement). Ne pas laver plus de barrettes qu'il ne peut en être manipulé pendant 30mn.
3. Pipeter 25 µl de Calibreurs ACE (CAL 0, 2, 5, 15, 50, 75), de Contrôles (C) et d'échantillons de patients (inconnus-Inc.), dans les puits des barrettes, suivant le plan détaillé ci-dessous :

	1	2	3	4	5	6	7 etc.
A	Cal 0	Cal 50	Inc1				
B	Cal 0	Cal 50	Inc1				
C	Cal 2	Cal 75	Inc2				
D	Cal 2	Cal 75	Inc2				
E	Cal 5	C1	Etc.				
F	Cal 5	C1					
G	Cal 15	C2					
H	Cal 15	C2					

4. Ajouter 100 µl de Solution d'Anticorps, à chaque puits, en utilisant une pipette de précision 100 µl (ou une pipette de précision 100 µl à 8 canaux). Eviter de passer au-dessus de la plaque, en maintenant l'embout de pipette légèrement au-dessus du haut du puits et éviter de toucher la barrette plastique ou la surface du liquide.
5. Incuber le portoir à barrettes pendant une heure (± 5 mn) à température ambiante (+20°/+25°C) avec une agitation constante de la plaque à l'aide d'un agitateur à plaque micro-titre.
6. Laver 6 fois chaque barrette, en utilisant la procédure de lavage décrite dans les Notes de Procédure, paragraphe 4.
7. Ajouter 100 µl de Substrat-HRP TMB, à chaque puits, en utilisant la même technique de pipetage qu'au paragraphe 4 ci-dessus. Le Substrat-HRP TMB doit être ajouté aux puits, le plus vite possible et le temps entre les additions, du premier au dernier puits, ne doit pas dépasser 5 mn.
8. Incuber pendant 30 mn (± 5 mn) à température ambiante avec une agitation constante. Eviter l'exposition directe à la lumière du jour.

9. Lire l'absorbance à 620nm, immédiatement, dans un Spectrophotomètre pour plaque micro-titre.

Option: si le laboratoire n'a pas accès à un Spectrophotomètre pour plaque micro-titre capable de lire à 620 nm, l'absorbance peut être déterminée comme suit:

Alt. 9. Ajouter 100 µl de Solution d'Arrêt, mélanger et lire l'absorbance à 405 nm, dans un Spectrophotomètre pour plaque micro-titre, dans les 15 mn suivant l'addition de la Solution d'Arrêt.

Intervalle de Mesure

Le CanAg ACE EIA mesure des concentrations entre 0.25 et 75 µg/l. Si des concentrations d'ACE, en dehors de l'intervalle de mesure, sont attendues, il est recommandé de diluer les échantillons avec le Calibreur 0, ACE, avant analyse.

Contrôle Qualité

Les Contrôles, 1 et 2, ACE, doivent être utilisés pour la validation de séries de tests. L'intervalle de mesure attendu est indiqué sur les étiquettes des flacons. Si des valeurs, en dehors de l'intervalle spécifié, sont obtenues, un contrôle complet des réactifs et de la performance du lecteur, doit être mené et les analyses répétées. Chaque laboratoire doit, en plus, préparer ses propres groupes de sérum, à différents niveaux, pour être utilisés lors de contrôles internes, pour assurer la précision du Test.

Matériel de Référence

La Première Préparation de Référence Internationale, IRP 73/601, doit être utilisée comme Standard de Référence. Les valeurs des Calibreurs et des Contrôles, ACE, seront opposées à une série de Standards de Référence maison dont les valeurs sont traçables dans IRP 73/601, en utilisant un facteur de conversion 13.5, c'est à dire 1 µg/l correspond à 13.5 IU/l.

CALCUL DES RESULTATS

Si un Spectrophotomètre pour plaque micro-titre, avec calcul des données intégré, est utilisé, se référer au Manuel du Lecteur de plaque et créer un programme utilisant la concentration signalée sur l'étiquette de chaque Calibreur ACE.

Pour un calcul automatique des résultats d'ACE, il est recommandé d'utiliser l'une ou l'autre des méthodes suivantes :

- La courbe de cannelure cubique correspond à la méthode. Le Calibreur 0 doit être inclus dans la courbe avec la valeur 0 µg/l.
- La courbe lissée de la cannelure correspond à la méthode. Le Calibreur 0 doit être utilisé comme témoin blanc.
- Interpolation avec une évaluation point par point. Le Calibreur 0 doit être inclus dans la courbe avec la valeur 0 µg/l.

- La courbe quadratique correspond à la méthode. Le Calibreur 0 doit être inclus dans la courbe avec la valeur 0 µg/l.

Note: Les méthodes, 4-Paramétrique ou de Régression Linéaire, ne doivent pas être utilisées.

Pour une évaluation manuelle, une courbe de calibrage est construite en mettant sous forme graphique les valeurs d'absorbance (A) obtenues pour chaque Calibreur ACE, contre les concentrations (en µg/l) correspondantes en ACE, voir le graphique ci-dessous. Les concentrations inconnues en ACE, peuvent alors être lues, sur la courbe standard, en utilisant la valeur moyenne de chaque échantillon de patient.

Si les échantillons, d'une analyse initiale, donnent des niveaux d'ACE, au-dessus de 75 µg/l, les échantillons doivent être dilués au 1/10 et au 1/100 avec le Calibreur 0, ACE, et ré analysés pour obtenir des concentrations précises en ACE.

1 / 10 dilution = 50 µl d'échantillon + 450 µl de Calibreur 0, ACE (µg/l)

1 / 100 dilution = 50 µl de 1 / 10 dilution + 450 µl de Calibreur 0, ACE (µg/l)

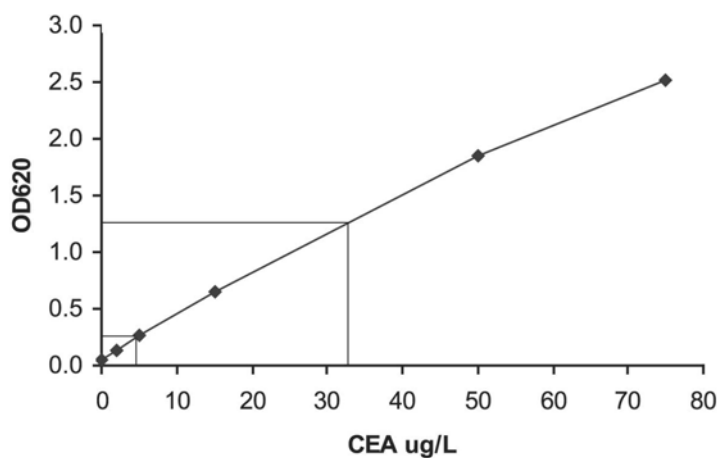
La concentration en ACE des échantillons non dilués est calculée comme suit:

Dilution 1/10: 10 x valeur Mesurée

Dilution 1/100: 100 x valeur Mesurée

Exemple de résultats

Calibreurs Echantillons	Valeurs pour Calibreurs	Valeur moyenne d'absorbance (A)	ACE (µg/l)
CAL CEA 0	0 µg/l	0.050	
CAL CEA 2	2 µg/l	0.131	
CAL CEA 5	5 µg/l	0.259	
CAL CEA 15	15 µg/l	0.657	
CAL CEA 50	50 µg/l	1.857	
CAL CEA 75	75 µg/l	2.519	
Echantillon A		0.220	4.1
Echantillon B		1.290	32.3



Exemple: ne pas utiliser cette courbe et le tableau ci-dessus, pour déterminer des résultats actuels de tests.

LIMITES DE LA PROCEDURE

Le niveau d'ACE ne doit pas être utilisé comme évidence absolue de la présence ou de l'absence d'une maladie maligne et le Test ACE ne doit pas être utilisé pour un dépistage du cancer. Les résultats du test doivent être interprétés seulement en conjonction avec d'autres investigations et procédures, dans le diagnostic de maladie et la gestion de patients, et le Test ACE ne doit pas remplacer un examen clinique établi.

Les Anticorps Anti-Réactifs (anticorps humain anti-souris (HAMA) ou anticorps hétérophiliques) dans les échantillons de patients, peuvent interférer occasionnellement avec le Test, même si des agents bloquants spécifiques sont inclus dans le tampon.

VALEURS ATTENDUES

CanAg ACE a été mesuré sur 95 donneurs de sang en bonne santé et sur 117 individus en bonne santé, âgés de 60 à 64 ans. Les plus bas et les plus haut extrêmes de l'intervalle normal ont été examinés en utilisant IFCC, le traitement statistique non-paramétrique recommandé. L'intervalle de référence contient 95% de la fraction centrale de la distribution de référence. Les limites de référence doivent, suivant cela, être estimées comme 2.5% (+bas) et les 97.5% (+haut) fractiles. Ces limites isolent une fraction de 2.5% des valeurs dans chaque queue de la distribution de référence.

Des estimations non-paramétriques donnent :

	Moyenne (µg/L)	SD (µg/L)	Médiane (µg/L)	Echelle (µg/L)	Limite de référence supérieure : 95% fraction centrale
Donneurs de sang en bonne santé n=95	1.3	1.0	1.0	0.5 – 9.1	3.2 µg/l
Individus en bonne santé : 60<age>64 n=117	2.4	1.7	1.9	0.5 – 8.8	7.4 µg/l

96% des sujets en bonne santé ont des valeurs en dessous de 5 µg/l.

Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir sa propre échelle normale pour prendre en compte les facteurs environnementaux locaux comme le régime alimentaire, le climat, les conditions de vie, la sélection des patients, etc.

Aussi, il ne doit pas être oublié, que la base propre des résultats des individus patients donne le point de référence le plus important pour l'interprétation des résultats du marqueur. Etre fumeur peut augmenter les niveaux d'ACE chez des individus en bonne santé.

CARACTERISTIQUES DE LA PERFORMANCE

Précision

La précision intermédiaire est déterminée, suivant la Directive NCCLS EP5-A (7), en utilisant quatre niveaux de sérum congelés de groupes humains contenant de l'ACE additionné et deux combinaisons de réactifs différents CanAg ACE EIA. Chaque échantillon est pipeté au hasard (n=2/analyses) et analysé deux fois par jour sur 20 jours.

Echantillon	Répliques	Moyenne (µg/l)	Série SD (µg/l)	Série CV %	Entre-jour SD (µg/l)	Entre-jour CV %
ACE 1	80	2.78	0.07	2.5	0.08	2.7
ACE 2	80	5.97	0.15	2.6	0.11	1.8
ACE 3	80	20.8	0.44	2.1	0.36	1.7
ACE 4	80	57.3	1.57	2.7	0.87	1.5

Limite de Détection

La limite de détection du Test CanAg ACE EIA est ≤ 0.25 µg/l, définis comme la concentration correspondant à la moyenne des valeurs d'absorbance du Calibreur 0, ACE, plus 2 Déviations Standards suivant la formule :

$$\frac{2 \times \text{SD CAL 0}}{\text{OD CAL 2} - \text{OD CAL 0}} \times 2 \mu\text{g/l}$$

Récupération

Des échantillons pointus sont préparés en ajoutant de l'antigène humain ACE à des échantillons de sérum normal. La récupération de l'antigène ajouté est dans l'intervalle 90–115 %.

Effet Crochet

Lorsque l'absorbance est lue à 405 nm, c'est-à-dire en utilisant la procédure d'essai facultative avec ajout de solution d'arrêt, aucun effet crochet n'a été relevé pour des échantillons à des concentrations allant jusqu'à 250 000 µg/L. Lorsque l'absorbance est lue à 620 nm dans des échantillons avec des concentrations extrêmement élevées, la couleur du substrat peut changer du bleu au légèrement vert. Ceci peut produire des absorbances relativement faibles qui peuvent tomber dans l'intervalle de la courbe de calibration et être considérées comme un crochet. Un tel effet crochet à 620 nm a été relevé sur des échantillons à des concentrations supérieures à 2000 µg/L.

Pour éviter des résultats faussement bas suite à un effet crochet apparent lorsque l'absorbance est lue à 620 nm, il est recommandé d'utiliser la procédure d'essai facultative et de déterminer l'absorbance à 405 nm chez des patients analysés pour la première fois ou chez ceux pour lesquels des valeurs très élevées sont prévisibles pour l'ACE.

Linéarité

Les échantillons de patients sont dilués en série avec le Calibreur 0, ACE, et analysés. Les valeurs obtenues sont dans l'intervalle 90-120% des valeurs attendues.

Spécificité

Le Test CanAg ACE EIA, est basé sur deux anticorps monoclonaux de la souris, le capteur MAb 12-140-10 contre l'épitope Gold IV et le détecteur MAb 12-140-1 contre l'épitope Gold V (4, 5).

La Directive NCCLS, EP7-P (8) est utilisée pour déterminer les sources possibles d'interférence.

Les Substances suivantes, avec leurs concentrations respectives, sont testées et trouvées comme n'interférant pas avec le Test :

	Concentration n'ayant pas d'interférence significative ($\pm 10\%$)
Lipémie (Intralipid [®])	10 mg/ml
Bilirubine, non conjuguée	0.6 mg/ml
Hémoglobine	5 mg/ml

Comparaison de Méthode

Le Test CanAg ACE EIA est comparé au Kit Wallac Delfia CEA. Soixante dix sept échantillons de sérum humain, dont les valeurs s'étalent de 0 à 790 µg/l, sont mesurés et les résultats sont soumis à l'analyse de Régression Linéaire:

$$\text{CanAg ACE} = 0.90 \times \text{Delfia CEA} + 0.53 \quad r=1.00$$

GARANTIE

Les données de performance, présentées ici, sont obtenues en utilisant la procédure du Test décrite. Tout changement ou modification de la procédure, non recommandé par Fujirebio Diagnostics, peut affecter les résultats, dans ce cas, Fujirebio Diagnostics rejette toutes les garanties explicites, implicites ou incluant statutairement la garantie implicite de commercialisation et d'adaptation à l'utilisation.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Gold P. and Freedman S. O. (1965) Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system. *J. Exp Med* 122: 467–481.
2. Thompson J.A. and Zimmerman W. (1988) The carcinoembryonic antigen gene family : Structure, expression and evolution. *Tumor Biol*; 9: 63–83.
3. Börner, O.P. (1992) Thesis "Immunoassays for Carcinoembryonic antigen, Specificity and Interferences", ISBN 82–7633–014–2.
4. Hammarström S. et al. (1989) Antigenic sites in carcinoembryonic antigen. *Cancer Res* 49: 4852–4858.
5. Tumor Marker Expert Panel, ASCO (1996) Clinical practice guidelines for the use of tumor markers in breast and colorectal cancer. *J. Clin Oncol*; 14: 2843–2877.
6. Fleisher M. et al. (2002) Practice guidelines and recommendations for use of tumor markers in the clinic. *National Academy of Clinical Biochemistry* 15: 26-29.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. Approved Guideline EP5-A (1999).
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards, National Evaluation Protocols for Interference Testing, Evaluation protocol Number 7, Vol. 6, No 13, August (1986).



CanAg® est une Marque Déposée de Fujirebio Diagnostics AB

Fujirebio Diagnostics AB
Elof Lindälvs gata 13
SE-414 55 Göteborg
Sweden
Phone + 46 31-85 70 30
Fax + 46 31-85 70 40
info@fdab.com
www.fdab.com