



CanAg NSE EIA

Prod. No. 420-10

Instructions d'utilisation
2009-11

Kit de Test Immunoenzymatique
Pour 96 déterminations

UTILISATION

Le Kit CanAg NSE EIA est destiné à la détermination quantitative du NSE dans le sérum humain.

RESUME ET EXPLICATION DU TEST

La glycolytic enzyme enolase (2-phospho-D-glycerate hydrolase, EC 4.2.1.11) existe sous plusieurs isoformes dimériques ($\alpha\alpha$, $\alpha\beta$, $\beta\beta$ et $\gamma\gamma$) composées de trois sous-unités immunologiquement distinctes : α , β et γ . L'unité γ est trouvée soit dans un homologue $\gamma\gamma$ - ou dans un hétérologue $\alpha\gamma$ - isoenzyme et est connue comme Neurone Spécifique Enolase (NSE). Les anticorps monoclonaux utilisés dans le Test CanAg NSE EIA relèvent de la sous-unité γ - de l'enzyme et de cette façon détecte à la fois les formes $\gamma\gamma$ et $\alpha\gamma$ (1,2). Les niveaux de NSE sont bas chez les sujets en bonne santé ou ayant des maladies bénignes. Des niveaux élevés sont communément trouvés chez les patients ayant des tumeurs malignes avec une différenciation neuroendocrine, spécialement dans les cancers pulmonaires à petites cellules (SCLC) (3) et le neuroblastome (4). La détermination quantitative de NSE dans le sérum est utile dans la gestion de patients avec un SCLC suspecté ou diagnostiqué ou un neuroblastome, to aid in the differential diagnosis and, surveiller l'effet du traitement (5,6).

PRINCIPE DU TEST

Le Test CanAg NSE EIA est en phase solide. Cet immuno-test, non-compétitif, est basé sur deux anticorps monoclonaux (de la souris) dirigés contre deux déterminants antigéniques séparés de la molécule NSE.

Les anticorps monoclonaux (Mab) utilisés, relèvent de la sous-unité γ de l'enzyme et de ce fait détecte à la fois les formes $\gamma\gamma$ et $\alpha\gamma$.

Les Calibreurs et les échantillons de patients sont incubés ensemble, avec Anti-NSE Mab E21 biotinylé et la peroxydase du raifort (HRP) étiquetée Anti-NSE Mab E17, dans des barrettes microtitre enduites à la Streptavidine. Après lavage, le réactif tampon substrat/chromogène (peroxyde d'hydrogène et 3, 3', 5, 5' tétra-méthyl-benzidine) est ajouté dans chaque puits et la réaction enzymatique peut commencer. Pendant la réaction enzymatique, une couleur bleue se développe si l'antigène est présent.

L'intensité du développement de la couleur est proportionnelle à la quantité de NSE présent dans les échantillons.

L'intensité de la couleur est déterminée par un Spectrophotomètre pour plaque microtitre à 620 nm (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 de NSE des échantillons de patients sont alors lues à partir de la courbe de calibrage.

REACTIFS

- Chaque Kit CanAg NSE 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 sa 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

Microplaque

1 plaque

+2° - +8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur la plaque

12 x 8 puits séparables enduits de streptavidine. Après ouverture, replacer immédiatement les barrettes inutilisées dans le sachet en aluminium contenant le dessiccateur. Refermer hermétiquement avec soin pour les garder au sec.

Calibreurs NSE

5 flacons lyophilisés

4 semaines à +2°- +8°C
3 mois à - 20°C

CAL	NSE	A
CAL	NSE	B
CAL	NSE	C
CAL	NSE	D
CAL	NSE	E

1 x 0.75 ml

1 x 0.75 ml

1 x 0.75 ml

1 x 0.75 ml

1 x 0.75 ml

Les Calibreurs lyophilisés contiennent de la NSE humaine sur une matrice protéinique avec 0,01% conservateur non azide. Ils doivent être reconstitués avec 0.75 mL de l'eau distillée avant.

Note: la concentration exacte de NSE est spécifique au lot et est indiquée sur l'étiquette de chaque flacon.

BIOTIN	Anti-NSE
---------------	-----------------

Biotine Anti-NSE

1 x 15 ml

+2° - +8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon

Solution de Biotine Anti-NSE, anticorps monoclonal de souris, à la concentration approximative de 2 µg/ml. Elle contient un tampon Phosphate (pH 7.1), de l'albumine de sérum de bovin, des agents bloquants, un colorant inerte bleu et 0.01 % de méthyl-isothiazolone (MIT) comme conservateur. Elle doit être mélangée au Traceur, HRP Anti-NSE avant utilisation.

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

CONJ	Anti-NSE
------	----------

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

Solution concentrée de HRP Anti-NSE, anticorps monoclonal de souris, à la concentration approximative de 40 µg/ml. Elle doit être mélangée avec Biotine Anti-NSE, avant utilisation. Elle contient 0.02% de méthyl-isothiazolone (MIT), 0.02% de bromonitrodioxane et 20 ppm de Proclin™ 300, comme conservateurs.

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

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

Solution prête à l'emploi. Elle contient un tampon de peroxyde d'hydrogène et du 3,3',5,5' tétraméthylbenzidine (TMB).

STOP

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

Solution prête à l'emploi. Elle contient 0.12 M 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
--------------------------------------	-----------	--

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

Signes d'instabilité

Le Substrat-TMB HRP, 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 PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

Pour un usage diagnostic in Vitro

- Pour usage professionnel seulement.
- Prière de se référer à la Publication N° : (CDC) 88-8395 de l'U.S. Département of Health and Human Services (Béthesda, Md., USA) sur les procédures de sécurité dans les laboratoires ou toutes autres réglementations locales et nationales.
- Manipuler les échantillons de patients comme potentiellement infectieux.
- Suivre les réglementations locales pour l'élimination et le traitement de tous les déchets.

Attention

Chaque individu donneur, utilisé pour la préparation de réactifs d'origine humaine, a été testé et trouvé non réactif aux Anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine (VIH-1/2), aux Anticorps de l'Hépatite C (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 de réactifs d'origine humaine doivent être effectuées comme s'ils étaient potentiellement infectieux.

PRÉLÈVEMENT ET MANIPULATION DES ÉCHANTILLONS

Le Test CanAg NSE EIA est destiné à être utilisé avec du sérum. Prélever du sang par veino-puncture et séparer le sérum selon les procédures habituelles. Le sérum doit être séparé du caillot pendant les 60 min. suivant le prélèvement, pour éviter la perte de NSE par les cellules sanguines. Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés. Le plasma n'est pas recommandé puisqu'une quantité importante de NSE peut être rejetée par les plaquettes. Les échantillons peuvent être conservés à +2° - +8°C pendant 24 heures. Pour des périodes plus longues, conserver les échantillons à -70°C (ou en dessous). Les échantillons ne doivent pas être conservés dans un congélateur à décongélation automatique et ne doivent pas être décongelés et recongelés avant analyse. Amener les échantillons congelés à température ambiante et les mélanger SOIGNEUSEMENT en les renversant en douceur à plusieurs reprises avant l'analyse. Les échantillons qui contiennent des particules grossières doivent être centrifugés à 10 000 x g pendant 10 minutes avant l'emploi pour éliminer les particules pouvant avoir été générées par la décongélation. Analyze thawed samples within one hour.

MODE OPÉRATOIRE

Matériels nécessaire mais non fournis avec le Kit.

- 1. Agitateur-vibreux de plaque microtitre**
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/min.
- 2. Laveur de plaque microtitre**
Il peut s'agir soit d'un laveur automatique capable de réaliser 1 à 6 cycles de lavage, soit d'un laveur semi-manuel. Ils doivent être connectés à une pompe à vide ou à une pompe à jet d'eau et à un piège à liquides, pour conserver les liquides aspirés.
Le Nunc Immuno-8, laveur manuel de barrettes, est recommandé si un laveur de plaque microtitre automatique n'est pas utilisé.
- 3. Spectrophotomètre de plaque microtitre**
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**
Avec embouts plastiques jetables pour la distribution de volumes en microlitres. Une pipette à 8 canaux ou un distributeur avec embouts plastiques jetables pour la distribution de 100 µL sont recommandés mais non obligatoires. Pipettes pour la distribution de volumes en millilitres.
- 5. Eau distillée et désionisée**
Pour la reconstitution des Calibreurs NSE et pour la préparation de la Solution de Lavage diluée.

Notes de Procédure

1. Une compréhension complète de la notice est nécessaire pour assurer un usage correct du Kit CanAg NSE EIA. Les Réactifs livrés dans le Kit en font partie intégrante.
Ne pas mélanger des Réactifs identiques venant de Kits avec un N° de lot différent.
Ne pas utiliser les Réactifs après la date d'expiration imprimée à l'extérieur de la boîte.
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° et 25°C pour obtenir un résultat précis. Une série congelée doit être agitée doucement mais complètement après décongélation.
3. Avant de commencer à pipeter les Calibreurs 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. Le lavage efficace et complet assurant la séparation de l'antigène lié et non lié, ainsi que les réactifs des complexes anticorps-antigène liés en phase solide est l'une des étapes les plus importantes d'un dosage immunoenzymatique. Pour garantir un lavage efficace, s'assurer que tous les puits sont complètement remplis de solution de lavage pendant chaque cycle de lavage, que la solution de lavage est distribuée à un débit approprié, que l'aspiration des puits entre et après les cycles de lavage est complète et que les puits sont vides. Si du liquide reste, renverser la plaque et tapoter doucement contre du papier absorbant.
- Laveur de barrettes automatique: observer soigneusement les instructions du fabricant relatives au lavage et à l'entretien et appliquer le nombre de cycles de lavage requis avant et après chaque étape d'incubation. Il est vivement recommandé d'utiliser le mode de traitement barrette et le mode de lavage trop-plein avec un volume de distribution de 800 µL. Le dispositif d'aspiration/ lavage ne doit pas être laissé avec de la solution de lavage pendant de longues périodes car les

aiguilles risquent de s'encrasser, entraînant une mauvaise distribution du liquide et une mauvaise aspiration..

5. Le Substrat-TMP HRP est très sensible à la contamination. Pour une stabilité optimale du Substrat-TMP HRP, transférer la quantité requise du flacon dans un réservoir délicatement lavé ou préférablement dans un bac jetable en plastique pour éviter la contamination du Réactif. S'assurer de l'utilisation de pointes de pipettes en plastique, nettoyées 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 correcte, lors de la manipulation des échantillons et des Réactifs. Eviter de passer au-dessus en maintenant la pointe de pipette légèrement au-dessus du haut du puits et éviter de toucher la barrette de plastique ou la surface du liquide. Une technique de pipetage correcte est d'une importance particulière lorsque l'on manipule la Solution de Substrat-TMB HRB.

Préparation des Réactifs	Stabilité des Réactifs préparés
---------------------------------	--

Calibreurs NSE

4 semaines à +2° - +8°C
3 mois à - 20°C

Ajouter exactement 0.75ml d'eau distillée ou désionisée à chaque flacon et mélanger doucement. Laisser reposer au moins 15 mn pour la reconstitution.

Note: la concentration des Calibreurs est spécifiée sur les étiquettes et doit être utilisée pour le calcul des résultats.

Solution de Lavage

2 semaines à +2° - +25°C
en 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 requise de Solution d'Anticorps en mélangeant 50µl de Traceur HRP Anti-NSE avec 1ml de Biotine Anti-NSE par barrette. (voir le tableau ci-dessous)

N° de Barrette	Traceur, HRP Anti-NSE (µl)	Biotine Anti-NSE (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 de Traceur, HRP Anti-NSE dans le flacon de Biotine Anti-NSE et mélanger doucement. S'assurer que tout le contenu de Traceur, HRP Anti-NSE est transféré dans le flacon de Biotine Anti-NSE.

Note: la Solution d'Anticorps est stable pendant trois 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.

Procédure du Test

Réaliser chaque détermination en double, pour à la fois les Calibreurs 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.

- Commencer par la préparation du Calibreur NSE, 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.
- Transférer le nombre requis de barrettes de plaque microtitre sur un portoir à barrettes. Remettre immédiatement le reste de barrettes dans le sac aluminium contenant le déshydratant et ressouder soigneusement. Laver une fois chaque barrette avec la Solution de Lavage. Ne pas laver plus de barrettes qu'il peut en être manipulé pendant 30 mn.
- Pipeter 25 µl de Calibreurs NSE (CAL A, B, C, D, E) 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 A	Cal E	4th Inc				
B	Cal A	Cal E	etc				
C	Cal B	1st Inc					
D	Cal B	1st Inc					
E	Cal B	2nd Inc					
F	Cal C	2nd Inc					
G	Cal D	3rd Inc					
H	Cal D	3rd Inc					

- Ajouter 100 µl de la Solution d'Anticorps à chaque puits en utilisant une pipette de précision 100 µl (ou une pipette de précision 100µl à 8 canaux). Éviter de passer au-dessus 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.
- Incuber la plaque pendant 1h (+/- 10 mn) à température ambiante avec une agitation constante de la plaque en utilisant un agitateur de plaque microtitre.
- Après incubation, aspirer et laver chaque barrette 6 fois.
- Ajouter 100 µl de Substrat-TMB HRP à chaque puits en utilisant la même procédure qu'au paragraphe 4, ci-dessus. Le Substrat-TMB HRP doit être ajouté aux puits, le plus vite possible et le temps entre les additions, du 1^{er} au dernier puits, ne doit pas dépasser 5 mn.
- Incuber pendant 30 mn (+/- 5 mn) à température ambiante avec une agitation constante. Éviter l'exposition directe à la lumière du jour.
- Lire immédiatement l'absorbance à 620 nm sur un Spectrophotomètre pour plaque microtitre.

Option: Si le Laboratoire n'a pas accès à un Spectrophotomètre pour plaque microtitre capable de lire à 620 nm, l'absorbance peut être déterminée comme au paragraphe 10, ci-dessous.

- Ajouter 100 µl de Solution d'Arrêt. Mélanger et lire l'absorbance à 405 nm dans un Spectrophotomètre pour plaque microtitre pendant les 15 mn suivant l'addition de la Solution d'Arrêt.

Intervalle de mesure

L'intervalle de mesure des concentrations du Test CanAg NSE EIA est compris entre 1 et approximativement 150 µg/l. Si les concentrations sont prévues d'être au-dessus de l'intervalle de mesure, il est recommandé de diluer les échantillons avec du sérum humain normal avant l'analyse.

Note : le sérum utilisé pour la dilution doit aussi être analysé pour déterminer la concentration endogène de NSE (voir le paragraphe « Calcul des Résultats »).

Contrôle Qualité

CanChek Tumor Marker Control Sera, Niveaux 1 et 2 (disponible séparément, REF 107-20) sont recommandés pour la validation de séries de Test. L'intervalle des résultats attendus est indiqué sur les étiquettes des flacons. Si les valeurs obtenues sont en dehors de l'intervalle spécifié, un contrôle complet des Réactifs et de la performance du Lecteur, doit être fait et les analyses répétées.

Matériels de référence

Puisqu'il n'y a pas de matériel commun de référence pour l'Antigène NSE, les valeurs des Calibreurs de CanAg NSE EIA sont opposées à une série de Standards de Référence maison.

CALCUL DES RÉSULTATS

Si un Spectrophotomètre pour plaque microtitre, avec calcul des données intégré, est utilisé, se référer au manuel du Spectrophotomètre et créer un programme utilisant la concentration signalée sur l'étiquette de chaque Calibreur NSE.

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

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

Note: Les méthodes d'évaluation, 4-Paramétrique et de Régression Linéaire ne doivent pas être utilisées.

Pour une évaluation manuelle, une courbe de calibrage est établie en restituant les valeurs d'absorbance (A) obtenues pour chaque Calibreur NSE, contre la Concentration en NSE correspondante (en µg/l). Voir graphique ci-dessous. Les concentrations en NSE inconnues peuvent alors être lues sur la courbe standard en utilisant la valeur moyenne de l'absorbance de chaque échantillon de patient.

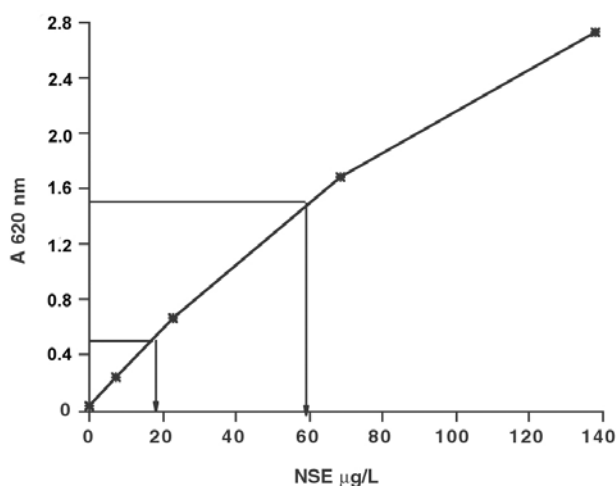
Si les échantillons d'une analyse initiale donne des niveaux au-dessus de la concentration du Calibreur E, il est nécessaire de diluer l'échantillon au 10 ème avec du sérum humain normal pour obtenir des résultats précis.

Le résultat doit alors être calculé suivant la Formule suivante :

$$\text{Dilution au 10 ème:} \quad 10 \times ([\text{NSE}]_{\text{Échantillon dilué}} - (0.9 \times [\text{NSE}]_{\text{Sérum humain normal}}))$$

Exemple de résultats:

Calibreurs et Échantillons			Valeurs pour les Calibreurs	Valeur moyenne d'absorbance (A)	NSE $\mu\text{g/l}$
CAL	NSE	A	0 $\mu\text{g/l}$	0,037	
CAL	NSE	B	7,5 $\mu\text{g/l}$	0,238	
CAL	NSE	C	22,9 $\mu\text{g/l}$	0,663	
CAL	NSE	D	68,4 $\mu\text{g/l}$	1,688	
CAL	NSE	E	138,0 $\mu\text{g/l}$	2,720	
Échantillon 1				0,518	17,5
Échantillon 2				1,474	57,8



Ceci est un exemple. Ne pas utiliser cette courbe pour déterminer des résultats de test. La concentration exacte en NSE est indiquée sur l'étiquette de chaque flacon Calibreur.

LIMITES DE LA PROCÉDURE

Le niveau de NSE ne peut pas être utilisé comme évidence absolue de la présence ou de l'absence d'une maladie maligne et le Test NSE 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 le Test NSE ne doit remplacer aucun examen clinique établi.

Des valeurs de NSE élevées, non dues à des tumeurs, se rencontrent chez des malades dialysés et des patients avec des maladies leucémiques. Le sérum ne doit pas contenir une hémolyse visible, (l'absorbance à 500 nm sur un échantillon non trouble ne doit pas excéder 0,3) puisque les érythrocytes contiennent des quantité significative de NSE (7). Un stockage prolongé d'un sang complet peut entraîner la sortie de NSE des cellules sanguines.

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

VALEURS ATTENDUES

Les individus en bonne santé donnent des valeurs de NSE en dessous de 13 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 de patients, etc.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Précision

La précision totale est déterminée suivant les Directives NCCLS EP5-A (8) utilisant quatre niveaux de sérum congelés de groupes humains contenant du NSE additionné. Chaque échantillon est pipeté au hasard, en double et analysé 2 fois par jour sur 20 jours. Les analyses sont menées pendant une période de 40 mois par au moins 3 techniciens différents et en utilisant 20 différents lots de Kit CanAg NSE EIA.

Échantillons	Répliques	Moyenne µg/L	Série SD (µg/L)	Série CV %	Entre-jour SD (µg/L)	Entre-jour CV %
NSE 1	80	10,3	0,24	2,3	0,57	5,5
NSE 2	80	23,7	0,82	3,5	0,97	4,1
NSE 3	80	48,2	1,02	2,1	1,93	4,0
NSE 4	80	92,7	1,60	1,7	3,44	3,7

Limite de détection

La limite de détection du Test CanAg NSE EIA est inférieur à 1 µg/l.

Elle est définie comme la concentration correspondante à la moyenne des valeurs d'absorbance du Calibreur A, NSE, plus 2 standards déviations suivant la formule :

$$\frac{2 \times \text{SD CAL A}}{\text{OD CAL B} - \text{OD CAL A}} \times [\text{CAL B}] \mu\text{g/L}$$

Effet crochet

Il n'y a pas d'effet crochet pour des concentrations de NSE au-dessus de 200 000 µg/l.

Linéarité

Les échantillons de patients sont dilués avec du sérum normal et analysés.

Les valeurs obtenues sont dans l'intervalle 93-101 % des valeurs attendues.

Spécificité

Les anticorps monoclonaux utilisés sont spécifiques pour la sous-unité γ d'enolase. Pas de réactions croisées mesurables avec d'autre enolase ont été observées.

Les Directives NCCLS EP7-P (9) sont suivies 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 (+/-10%)
Lipémie (Intralipid®)	10,0 mg/ml
Bilirubine, non conjuguée	0,6 mg/ml

GARANTIE

Les données de performance, présentées ici, sont obtenues en utilisant la procédure de Test indiquée.

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 exprimées, impliquées ou incluant statutairement la garantie impliquée de commercialisation et d'adaptation à l'utilisation.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Paus E. and Nustad K., (1989) Immunoradiometric Assay for $\alpha\gamma$ - and $\gamma\gamma$ -Enolase (Neuron-Specific Enolase), with Use of Monoclonal Antibodies and Magnetizable Polymer Particles. *Clin. Chem.* 35: 2034-2038.
2. Dahlén U., Karlsson B., Nilsson O. and Uhl W., (1995) Development of an Enzyme Immunoassay, NSE-Enzymun Test For Determination of Neuron-Specific Enolase. XXIII International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine, Montréal, Québec .
3. Cooper E.H., (1994) Neuron-specific enolase. *The International Journal of Biological Markers* 9(4):205-10.
4. Cooper E.H., Pritchard J., Bailey C.C. and Ninane J., (1987) Serum neuron-specific enolase in children's cancer. *Br. J. Cancer* 56: 65-67.
5. Schneider, P. M. et al., (2002) Lung Cancer. In "Tumor markers, Physiology, Pathobiology, Technology and Clinical Applications" Eds. Diamandis E. P. et al., AACCC Press, Washington pp 287-303.
6. Bonner J. A., Sloan JA., Rowland KM., Klee GG., Kugler JW., Mailliard JA., Wiesenfeld M., Krook JE., Maksymiuk AW., Shaw EG., Marks RS and Perez EA., (2000) Significance of Neuron-specific Enolase Levels before and during Therapy for Small Cell Lung Cancer. *Clinical Cancer Research* 6: 597-601.
7. Pålman S., Esscher T., Bergvall P. and Odelstad L., (1984) Purification and characterization of human neuron-specific enolase: Radioimmunoassay development. *Tumor Biol.* 5: 127-139.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. Approved Guideline EP5-A (1999)
9. 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 Lindälvsgata 13
SE-414 55 Göteborg
Sweden
Phone + 46 31-85 70 30
Fax + 46 31-85 70 40
info@fdab.com
www.fdab.com