



EL

CanAg NSE EIA

REF

420-10

IVD

CE

Οδηγίες χρήσης 2009-11

| | |
|----|-----------------------------|
| EN | EXPLANATION OF SYMBOLS |
| BG | ОБЪСНЕНИЕ НА СИМВОЛИТЕ |
| CS | VÝZNAM SYMBOLŮ |
| DA | SYMBOLFORKLARING |
| DE | ERKLÄRUNG DER SYMBOLE |
| EL | ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΩΝ ΣΥΜΒΟΛΩΝ |
| ES | SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS |
| ET | SÜMBOLITE SELGITUS |
| FR | EXPLICATION DES SYMBOLES |
| HR | OBJAŠNJENJE SIMBOLA |
| HU | JELMAGYARÁZAT |
| IT | SPIEGAZIONE DEI SIMBOLI |
| LT | SIMBOLIŲ PAAIŠKINIMAI |
| LV | SIMBOLU SKAIDROJUMS |
| NL | VERKLARING DER SYMBOLEN |
| NO | SYMBOLFORKLARING |
| PL | OBJAŚNIENIE SYMBOLI |
| PT | EXPLICAÇÃO DOS SÍMBOLOS |
| RO | SEMNIȚAȚIA SIMBOLURILOR |
| RU | ОБОЗНАЧЕНИЯ |
| SE | SYMBOLFÖRKLARING |
| SK | VÝZNAM SYMBOLOV |
| SL | RAZLAGA SIMBOLOV |
| SR | OBJAŠNJENJE SIMBOLA |
| TR | SEMBOLLERİN AÇIKLAMALARI |



Use By/Годно до/Použitelné do/
Holdbar til/Verwendbar bis/Ημερομηνία
λήξης/Fecha de caducidad/Kölblik
kuni/Utiliser jusque/Rok valjanosti/
Felhasználható/Utilizzare entro/Sunaudoti
iki/Izlietot līdz/Houdbaar tot/Brukes innen/
Użytyć przed/Prazo de validade/Expiră
la/Использовать до/Använd före/
Použite 'né do/ Uporabno do/Upotrebljivo
do/Son Kullanna Tarihi

LOT

Batch code/Номер на партида/Číslo
šarže/Lotnummer/Chargenbezeichnung/
Αριθμός Παρτίδας/Código de lote/
Partii kod/Kod de lot/Kod serije/
Sarzszám/Codice del lotto/Partijos
kodus/Partijas kods/Lot number/
Partikode/Kod partii/Código do lote/
Număr de lot/Номер лота/
Lotnummer/Číslo šarže/Številka serije/
Kod partije/Parti Kodu



Date of manufacture/Дата на производство/Datum výroby/ Produktionsdato/Herstellungsdatum/ Ημερομηνία παραγωγής/Fecha de fabricación/Valmistamise kuupäev/Date de fabrication/Datum proizvodnje/Gyártási idő/ Data di produzione/Pagaminimo data/Režošanas datums/Productiedatum/Fremstillingsdato/Data produkcyj/Data de fabrico/Data fabricației/ Дата производства/Tilverkningdatum/ Dátum výroby/Datum izdelave/Datum proizvodnje/Üretim tarihi



Temperature limitation/ Температурни граници/ Терplotni omezení/ Temperaturbegrensning/ Temperaturbegrenzung/ Περιορισμοί θερμοκρασίας/ Limites de temperatura/ Temperaturi piirang/ Limite de température/ Temperaturno ograničenje/ Hőmérsékletre vonatkozó korlátozás/ Limiti di temperatura/ Temperaturiniai apribojimai/ Temperatūras ierobežojums/ Temperaturbepërking/ Temperaturbegrensninger/ Temperatury graniczne/ Limite de temperatură/ Температурный режим/ Temperaturbegrensning/ Teplotné obmedzenie/ Omejitve temperature/ Temperaturno ograničenje/ Sıcaklık sınırlaması/

IVD

In Vitro Diagnostic Medical Device/ Медицински уред за диагностика ин витро/Lékařský přístroj pro diagnostiku in vitro/Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik/ In-vitro-Diagnostikum/ Ιατροτεχνολογικό προϊόν για διάγνωση In Vitro/Dispositivo médico para diagnóstico in vitro/In vitro diagnostiline meditsiniseade/Dispositif médical de diagnostic in vitro/Diagnostički medicinski uređaj In Vitro/In vitro in vivo diagnostikai eszköz/Dispositivo medico per test diagnostici in vitro/In Vitro Diagnostinė Medicinos Priemonė/Mediciniska ierīce in vitro diagnostikai/In vitro-diagnostisch medisch instrument/In vitro diagnostisk medisinsk utstyr/ Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro/ Dispositivo Médico de Diagnóstico In Vitro/ Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro/ Только для диагностики In Vitro/Endast för in vitro-diagnostik/ Zdravotnícka pomôcka na diagnostiku in vitro/In vitro diagnostični pripomoček/Diagnostički medicinski uređaj In Vitro/<96> testleri için yeterlilik içerir



Contains sufficient for <96> tests/Съдържа достатъчно количество за тестове <96>/Lze použít pro <96> testů/Inneholder tilstrækkeligt/Inhalt ausreichend für <96> Prüfungen/ Περιεχόμενο επαρκές για «96» εξετάσεις/ Contenido suficiente para <96> ensayos/Kogusest piisab <96> testi läbiviimiseks/Contenuto sufficiente pour «96» tests/Sadržaji dovoljno za <96> testova/A doboz tartalma <96> vizsgálat elvégzéséhez elegendő/Contenuto sufficiente per «96» saggi/ Turinys skirtas atlikti <96> tyrimus/Saturs pietiekams <96> testiem/Inhoud voldoende voor «96» testen/til «96» test/Tilstrækkelig innhold for <96> prøver/Wystarczy na wykonanie <96> testów/ Conteúdo suficiente para «96» ensaios/Conținut suficient pentru 96 de teste/Содержит достаточное количество для «96» определений/Innehåller tillräckligt till «96» antal tester/Obsah postačuje na tento počet testov. <96>/Vsečina zadostuje za <96> testov/ Sadržina dovoljna za <96> testova/<96> testleri için yeterlilik içerir

REF

Catalogue number/Каталожен номер/ Katalogové číslo/Katalognummer/ Bestellnummer/Αριθμός καταλόγου/ Número de catálogo/Katalogi number/Numéro de catalogue/Kataloški broj/Katalogusszám/ Numero di catalogo/Katalogo numeris/Numurs katalogā/Catalogusnummer/Katalognummer/ Numer katalogowy/Número do catálogo/ Număr de catalog/Номер по каталогу/ Produktnummer/Katalogové číslo/Kataloška številka/Kataloški broj/ Katalog numaras



Consult Instructions for Use/Прочетете инструкцията за употреба/
Konzultujte s návodem k použití/Se brugsanvisning/Siehe Gebrauchsanweisung/
Συμβουλευτείτε τις Οδηγίες σχετικά με τη χρήση/Consulte las instrucciones de uso/Vt kasutusjuhendit/Consulter le mode d'emploi/Pročitajte upute za uporabu/
Olvassa el a használati utasítást/Consultare le istruzioni per l'uso/Del naučimo žiūrėkite instrukcijas/Izlasiet lietošanas instrukciju/
Raadpleeg de instructies voor gebruik/
Les instruksene før bruk/Sprawdź w instrukcji użycia/Consulte as instruções de Utilização/Consultați instrucțiunile de utilizare/Обратитесь к инструкции по применению/Se bruksanvisning/
Prečitajte si návod na používanie/
Pročitajte uputstvo za upotrebu/Kullanım Talimatlarını Bakınız



Contents of kit/Съдържание на набора/
Obsah sady/Kittets indhold/Inhalt des Kits/
Περιεχόμενα του κιτ/**Contenido del kit/Komplekt** sisaldab/Contenu du kit/Sadržaj opreme/A készlet tartalma/Contenuto del kit/Rinkinio turinys/Komplekta saturis/Inhoud van de set/Set-tets indhold/Zawartość zestawu/ Conteúdo do kit/Conținutul setului/Компоненты набора/Kit innehåll/Obsah súpravy/Vsebina kompleta/Sadržaj opreme/Kitin iĉindekiler



Biological risks/Биологическа опасност/Biologická rizika/Biologisk fare/Biologische Gefahren/Βιολογικοί κίνδυνοι/Riesgos biológicos/Biologilised ohud/Risques biologiques/Biološki rizici/Biologijai kockázatok/Rischi biologici/Biologinis pavojus/
Biologiskais risks/Biologische risico's/
Biologiske risikoei/Zagrozenie biologiczne/
Riscos biológicos/ Biologisk risk/Pericole biologice/Биологическая опасность/
Biologicky rizikové/Biologické riziká/Biološki rizici/Bijolojik riskler



Human/C човешки производ/Lidské/
Human/Human/ἄνθρωπος αναφοράς/
Humano/Inimpăritolu/Humaine/Ljudskog porijekla/
Humán/Origine Umana/Žmogaus kilmės/
Cilvēku izcelsmes/Human/Menneske/Ludzka/
Humano/Origine umană/Человеческого происхождения/Human/L'udské/Humanlega izvora/Ljudskog porekla/İnsan



From mouse/C миши производ/Myši/Fra mus/der Maus/από ποντίκι/de ratón/Hiirtelt/De souris/Mišijeg porijekla/Egérbőli/Murino/Pelės kilmės/No peles/Van muizen/Fra mus/
Mysia/Do rato/De la șoareci/Мышиного происхождения/Från mus/Myšie/Mišijega izvora/Mišijeg porijekla/Farenden



Bovine/C говежди производ/
Hovēzī/Bovin/Rind/από βοοειδή/
Bovino/Veistelt/Bovine/Rogate stoke/
Szarvasmarha/Bovino/Jaučio/No liellopa/Bovien/Bovini/Wolowy/Bovino/
Origine bovină/крупного рогатого скота/Från ko/Hovädzie/Govejega izvora/Rogate krupne stoke/Bovin



Reconstitute with/Разтваряне с/
Rozfeďte pomocí/Rekonstitueres med/
Rekonstituieren mit/Ανασύσταση με/
Reconstituir con/Lahjendamine/
Reconstituer avec/Rekonstituiraite s/
Feloldáshoz/Ricostituire con/LT/Atšķaidīt ar/Reconstitutie met/Rekonstitueres med/Odtworzyć za pomocą/Reconstituir com/A se reconstitui cu/Растворить в/
Rekonstituera med/Rozriedte pomocou/
Rekonstituiraite z s/Ponovno formiranje sa/Yeniden oluşturalur



Manufacturer/Производитель/Výrobce/
Producent/Hersteller/Κατασκευαστής/Fabrique/
cante/Tootja/Fabricant/Proizvođač/Gyártó/
Fabricante/Gamintojas/Ražotājs/Fabrikant/
Produsent/Producent/Fabricante/Producător/
Производитель/Tilverkare/Výrobca/
Izdelovalec/Proizvođač/Üretici

CanAg NSE EIA

REF

420-10

Οδηγίες χρήσης

Κιτ δοκιμής ενζυματικής ανοσομέτρησης
για 96 προσδιορισμούς

ΣΚΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ

Το κιτ CanAg NSE EIA προορίζεται για τον ποσοτικό προσδιορισμό της NSE στον ανθρώπινο ορό.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΞΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Το γλυκολυτικό ένζυμο ενολάσης (2-φωσφο-D-γλυκερική υδρολάση, EC 4.2.1.11) απαντάται σε μορφή διμερών ισοένζυμων ($\alpha\alpha$, $\alpha\beta$, $\alpha\gamma$, $\beta\beta$ και $\gamma\gamma$) αποτελούμενων από τρεις διακριτές υποομάδες α , β και γ . Η μονάδα γ απαντάται σε μορφή ομόλογων ισοένζυμων $\gamma\gamma$ ή ετερόλογων ισοένζυμων $\alpha\gamma$ και είναι γνωστή ως νευρωνική ειδική ενολάση (NSE). Τα μονοκλωνικά αντισώματα που χρησιμοποιούνται στην CanAg NSE EIA δεσμεύονται στην υπομονάδα γ του ενζύμου και έτσι ανιχνεύει τις μορφές $\gamma\gamma$ και $\alpha\gamma$ (1, 2). Τα επίπεδα NSE είναι χαμηλά σε υγιή άτομα και σε άτομα με καλοήγη νοσήματα. Τα αυξημένα επίπεδα απαντώνται συνήθως σε ασθενείς με καλοήγη ογκούς με νευροενδοκρινή διαφοροποίηση, ειδικά μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (SCLC) (3) και νευροβλάστωμα (4). Ο ποσοτικός προσδιορισμός της NSE στον ορό μπορεί να είναι πολύτιμος για τη διαχείριση ασθενών με ύποπτο ή διαγνωσμένο μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (SCLC) ή νευροβλάστωμα, ως βοήθημα για τη διαφορική διάγνωση και την παρακολούθηση των αποτελεσμάτων της θεραπείας (5, 6).

ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

Η CanAg NSE EIA είναι μια ανοσολογική μη-ανταγωνιστική δοκιμή στέρας φάσης, η οποία βασίζεται σε δύο μονοκλωνικά αντισώματα (που προέρχονται από ποντίκι) και τα οποία στοχεύονται εναντίον δύο ξεχωριστών αντιγονικών προσδιοριστών του μορίου NSE. Τα μονοκλωνικά αντισώματα (MAb) που χρησιμοποιούνται, δεσμεύονται στην υπομονάδα γ του ενζύμου και έτσι ανιχνεύει τις μορφές $\gamma\gamma$ και $\alpha\gamma$. Οι βαθμονομητές και τα δείγματα ασθενούς επωάζονται μαζί με βιοτινυλιωμένο μονοκλωνικό αντίσωμα anti-NSE E21 και σύζευγμα μονοκλωνικού αντισώματος anti-NSE E17 και υπεροξειδάσης από ραφανίδα (HRP-labelled) σε βοθρία με επικάλυψη στρεπταβιδίνης. Μετά την πλύση, το ρυθμιστικό αντιδραστήριο υποστρώματος/χρωμογόνου (υπεροξειδίου του υδρογόνου και 3, 3', 5, 5' τετραμεθυλοβενζιδίνη) προστίθεται σε κάθε βοθρίο και επιτρέπεται να προχωρήσει η αντίδραση ενζύμου. Κατά την αντίδραση ενζύμου, εμφανίζεται μπλε χρώμα παρουσία αντιγόνου. Η ένταση του χρώματος που εμφανίζεται είναι ευθέως ανάλογη προς την ποσότητα NSE στα δείγματα. Η ένταση του χρώματος προσδιορίζεται σε φασματοφωτόμετρο μικροπλακών σε μήκος κύματος 620 nm (ή προαιρετικά σε μήκος κύματος 405 nm μετά την προσθήκη διαλύματος τερματισμού).

Οι καμπύλες βαθμονόμησης δημιουργούνται για κάθε δοκιμή με τη γραφική αναπαράσταση των τιμών απορρόφησης έναντι της συγκέντρωσης για κάθε βαθμονομητή. Οι συγκεντρώσεις της NSE στα δείγματα ασθενούς λαμβάνονται από την καμπύλη βαθμονόμησης.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- Κάθε kit CanAg NSE EIA περιέχει αντιδραστήρια για 96 δοκιμές.
- Η ημερομηνία λήξης του kit αναγράφεται στην ετικέτα, στο εξωτερικό της συσκευασίας του kit.
- Μην χρησιμοποιήσετε το kit μετά την ημερομηνία λήξης.
- Μην αναμειγνύετε αντιδραστήρια από διαφορετικές παρτίδες kit.
- Αποθηκεύστε τα kit σε θερμοκρασία 2–8°C. Μην καταψύχετε.
- Τα ανοιγμένα αντιδραστήρια είναι σταθερά σύμφωνα με τον πίνακα παρακάτω, με την προϋπόθεση ότι δεν έχουν μολυνθεί, αποθηκευθεί σε επανασφραγισμένα αρχικά δοχεία και ότι ο χειρισμός γίνεται σύμφωνα με τις οδηγίες. Πρέπει να γίνει επαναφορά σε θερμοκρασία 2–8°C αμέσως μετά τη χρήση.

| Συστατικό | Ποσότητα | Αποθήκευση και σταθερότητα μετά το πρώτο άνοιγμα |
|-----------|----------|--|
|-----------|----------|--|

| |
|-----------------|
| MICROPLA |
|-----------------|

| | | |
|-------------------|---------|---|
| Μικροπλάκα | 1 πλάκα | 2—8°C μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην πλάκα |
|-------------------|---------|---|

12 x 8 αποσπώμενα βοθρία με επικάλυψη στρεπταβιδίνης. Μετά το άνοιγμα, επιστρέψτε αμέσως τα αχρησιμοποίητα βοθρία στο αλουμινένιο δοχείο που περιέχει αφυγραντικό και σφραγίστε ξανά προσεχτικά για να διατηρηθούν στεγνά.

| | | |
|-------------------------|-----------------------------|--|
| Βαθμονομητές NSE | 5 φιαλίδια, λυοφιλοποιημένα | 4 εβδομάδες σε 2—8°C 3 μήνες σε -20°C |
|-------------------------|-----------------------------|--|

| | | | |
|------------|------------|----------|-------------|
| CAL | NSE | A | 1 x 0,75 mL |
|------------|------------|----------|-------------|

| | | | |
|------------|------------|----------|-------------|
| CAL | NSE | B | 1 x 0,75 mL |
|------------|------------|----------|-------------|

| | | | |
|------------|------------|----------|-------------|
| CAL | NSE | C | 1 x 0,75 mL |
|------------|------------|----------|-------------|

| | | | |
|------------|------------|----------|-------------|
| CAL | NSE | D | 1 x 0,75 mL |
|------------|------------|----------|-------------|

| | | | |
|------------|------------|----------|-------------|
| CAL | NSE | E | 1 x 0,75 mL |
|------------|------------|----------|-------------|

Οι λυοφιλοποιημένοι βαθμονομητές περιέχουν ανθρώπινη NSE σε μια μήτρα πρωτεΐνης με 0,01% συντηρητικού χωρίς αζίδιο. Να ανασυσταθεί με 0,75 mL απεσταγμένου νερού πριν από τη χρήση.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Η ακριβής συγκέντρωση NSE εξαρτάται από την παρτίδα και δηλώνεται στην ετικέτα κάθε φιαλιδίου.

| Συστατικό | Ποσότητα | Αποθήκευση και σταθερότητα μετά το πρώτο άνοιγμα |
|--|-------------|---|
| BIOTIN Anti-NSE | | |
| Anti-NSE βιοτίνης | 1 x 15 mL | 2—8°C μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο φιαλίδιο |
| <p>Μονοκλωνικό αντίσωμα anti-NSE βιοτίνης από ποντίκι, περίπου 2 µg/mL. Περιέχει ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών ιόντων (pH 7,1), λευκωματίνη βόειου ορού, ανασταλτικούς παράγοντες, αδρανή μπλε βαφή και 0,01% μεθυλ-ισοθειαζολόνη (MIT) ως συντηρητικό. Να αναμιχθεί με ιχνηθέτη HRP anti-NSE πριν από τη χρήση.</p> | | |
| CONJ Anti-NSE | | |
| Ιχνηθέτης, HRP anti-NSE | 1 x 0,75 mL | 2—8°C μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο φιαλίδιο |
| <p>Μητρικό διάλυμα μονοκλωνικού αντισώματος HRP anti-NSE από ποντίκι, κατά προσέγγιση 40 µg/mL. Να αναμιχθεί με το anti-NSE βιοτίνης πριν από τη χρήση. Περιέχει 0,02% μεθυλ-ισοθειαζολόνη (MIT), 0,02% βρωμονιτροδιοξάνη και 20 ppm Proclin™ 300 ως συντηρητικά.</p> | | |
| SUBS TMB | | |
| TMB υποστρώματος HRP | 1 x 12 mL | 2—8°C μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο φιαλίδιο |
| <p>Έτοιμο για χρήση. Περιέχει ρυθμιστικό υπεροξειδίο του υδρογόνου και 3, 3', 5, 5' τετραμεθυλοβενζιδίνη (TMB).</p> | | |
| STOP | | |
| Διάλυμα τερματισμού | 1 x 15 mL | 2—8°C μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο φιαλίδιο |
| <p>Έτοιμο για χρήση. Περιέχει 0,12 M υδροχλωρικού οξέος.</p> | | |
| WASHBUF 25X | | |
| Συμπύκνωμα πλύσης | 1 x 50 mL | 2—8°C μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στη φιάλη |
| <p>Να αραιωθεί με νερό 25 φορές πριν από τη χρήση. Αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα με Tris-HCl με Tween 20. Περιέχει Germall II ως συντηρητικό.</p> | | |

Ενδείξεις αστάθειας

Το TMB υποστρώματος HRP θα πρέπει να είναι άχρωμο ή ελαφρώς κυανόχρουν. Το μπλε χρώμα δηλώνει ότι το αντιδραστήριο έχει μολυνθεί και θα πρέπει να απορριφθεί.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Για διαγνωστική χρήση in vitro

- Για επαγγελματική χρήση μόνο
- Ανατρέξτε στη δημοσίευση αρ. (CDC) 88-8395 του Υπουργείου Υγείας και Ανθρώπινων Υπηρεσιών των ΗΠΑ (Bethesda, Md., US) σχετικά με την ασφάλεια στο εργαστήριο και άλλους τοπικούς ή εθνικούς κανονισμούς.
- Χειριστείτε όλα τα δείγματα ασθενούς σαν να ήταν εν δυνάμει μολυσματικά.
- Ακολουθήστε τις τοπικές κατευθυντήριες οδηγίες για την απόρριψη των αποβλήτων.

Προσοχή

Κάθε μονάδα δότη που χρησιμοποιείται για την παρασκευή αντιδραστηρίου ανθρώπινης προέλευσης έχει δοκιμαστεί και βρέθηκε ότι δεν αντιδρά για το αντίσωμα έναντι του HIV-1/2, το αντίσωμα έναντι της Ηπατίτιδας C (HCV) και το αντιγόνο επιφανείας Ηπατίτιδας Β (HBsAg). Καθώς καμία μέθοδος δεν μπορεί να αποκλείσει εντελώς την παρουσία αιματογενών μεταδιδόμενων νοσημάτων, ο χειρισμός και η απόρριψη των αντιδραστηρίων ανθρώπινης προέλευσης από αυτό το προϊόν θα πρέπει να γίνεται σαν να ήταν εν δυνάμει μολυσματικά.

ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Η CanAg NSE EIA προορίζεται για χρήση με ορό. Συλλέξτε το αίμα με φλεβοκέντηση και διαχωρίστε τον ορό ακολουθώντας τις τυπικές διαδικασίες. Ο ορός θα πρέπει να διαχωριστεί από το πήγμα εντός 60 λεπτών από τη συλλογή για την αποφυγή διαρροής NSE από τα ανθρώπινα κύτταρα. Μην χρησιμοποιήσετε αιμολυμένα δείγματα. Το πλάσμα δεν συνιστάται καθώς από τα αιμοπετάλια μπορεί να εκλυθούν σημαντικές ποσότητες NSE. Τα δείγματα μπορούν να αποθηκευθούν στους 2—8°C για 24 ώρες. Για μεγαλύτερες περιόδους, αποθηκεύστε τα δείγμα σε θερμοκρασία -70°C ή χαμηλότερη. Τα δείγματα θα πρέπει να αποθηκεύονται σε καταψύκτη με αυτόματη απόψυξη και δεν πρέπει να γίνεται απόψυξη και μετά κατάψυξη πριν από την ανάλυση. Αφήστε τα κατεψυγμένα δείγματα να αποκτήσουν τη θερμοκρασία δωματίου και αναμείξτε ΕΚΤΕΝΩΣ αναστρέφοντας με απαλές κινήσεις αρκετές φορές πριν από την ανάλυση. Δείγματα που περιέχουν μεγάλα σωματίδια θα πρέπει να φυγοκεντρηθούν με 10.000 x g για 10 λεπτά, πριν από τη χρήση ώστε να εξαλειφθεί η σωματιδιακή ύλη που μπορεί να αναπτύχθηκε από τη διαδικασία της απόψυξης. Αναλύστε να αποψυγμένα δείγματα εντός μίας ώρας.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Υλικά που απαιτούνται, αλλά δεν παρέχονται στο kit

1. Αναδευτήρας μικροπλακών

Η ένταση της ανάδευσης πρέπει να είναι μέτρια έως δυνατή. Κατά μήκος ανάδευση με 200 διαδρομές/min, ταλαντώσεις 700—900/min κατά προσέγγιση.

2. Συσκευή πλύσης μικροπλάκας

Αυτόματο πλυστικό πλακών με ικανότητα εκτέλεσης 1 και 6 κύκλων πλύσης, ή ημιαυτόματη συσκευή πλύσης μικροπλάκας που συνδέεται με αντλία κενού ή κενό δέσμης νερού και υγροπαγίδα για διατήρηση του αναρροφημένου υγρού.

Συνιστάται το μη αυτόματο πλυστικό βοθρίων Nunc Immuno-8 αν δεν χρησιμοποιείται αυτόματη συσκευή πλύσης μικροπλάκας.

3. Φασματοφωτόμετρο μικροπλακών

Με μήκος κύματος 620 nm ή/και 405 nm και περιοχή απορρόφησης 0 έως 3,0.

4. Πιπέτες ακριβείας

Με αναλώσιμα πλαστικά ρύγγη για την παροχή όγκων σε μικρολίτρα. Είναι χρήσιμη, αλλά όχι απαραίτητη, πιπέτα 8 καναλιών ή πιπέτα διανομής με αναλώσιμα πλαστικά ρύγγη για την παροχή 100 μL. Πιπέτες για παροχή όγκων σε χιλιοστόλιτρα.

5. Απεσταγμένο ή απιονισμένο νερό

Για την ανασύσταση βαθμονομητών NSE και για παρασκευή αραιωμένου διαλύματος πλύσης.

Σημειώσεις διαδικασίας

1. Απαιτείται πλήρης κατανόηση του ένθετου σε αυτό το πακέτο για να διασφαλιστεί η σωστή χρήση του kit CanAg NSE EIA. Τα αντιδραστήρια που παρέχονται με το kit, προορίζονται για χρήση ως ενιαία μονάδα. Μην αναμειγνύετε πανομοιότυπα αντιδραστήρια από kit με διαφορετικούς αριθμούς παρτίδας. Μην χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια kit μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο εξωτερικό της συσκευασίας του kit.
2. Τα αντιδραστήρια θα πρέπει να αποκτήσουν τη θερμοκρασία δωματίου (20–25°C) πριν από τη χρήση. Η δοκιμή θα πρέπει να διεξαχθεί μόνο σε θερμοκρασίες μεταξύ 20–25°C για την απόκτηση αποτελεσμάτων ακριβείας. Οι κατεψυγμένοι οροί πρέπει να αναμειχθούν διεξοδικά με απαλές κινήσεις μετά την απόψυξη.
3. Πριν ξεκινήσετε τη χορήγηση βαθμονομητών και δειγμάτων ασθενούς με πιπέτα, συνιστάται να σημειώσετε τα βαθμιαία ώστε να μπορείτε να αναγνωρίσετε τα δείγματα πριν και μετά τη δοκιμή.

4. Η απαίτηση για επιμελή και διεξοδική πλύση για διαχωρισμό του δεσμευμένου και μη δεσμευμένου αντιγόνου και των αντιδραστηρίων από τα συμπλέγματα δεσμευμένων αντισωμάτων-αντιγόνων στέρεας φάσης είναι ένα από τα σημαντικότερα βήματα σε μια ΕΙΑ. Για να διασφαλιστεί η αποτελεσματική πλύση, βεβαιωθείτε ότι όλα τα βοθρία πληρούνται πλήρως με διάλυμα πλύσης κατά τη διάρκεια κάθε κύκλου πλύσης, ότι το διάλυμα πλύσης παρέχεται με καλή ροή, ότι η αναρρόφηση των βοθρίων μεταξύ και μετά τους κύκλους πλύσης είναι πλήρης και ότι τα βοθρία είναι κενά. Αν έχει απομείνει υγρό, αναστρέψτε την πλάκα και χτυπήστε την προσεχτικά πάνω σε απορροφητικό χαρτί.
 - Αυτόματο πλυστικό βοθρίων: Ακολουθήστε τις οδηγίες του κατασκευαστή για τον ενδεδειγμένο καθαρισμό και τη συντήρηση. Πλύντε με τον απαραίτητο αριθμό κύκλων πλύσης πριν και μετά από κάθε βήμα επώασης. Συνιστάται η χρήση του τρόπου επεξεργασίας ανά stir και του τρόπου πλύσης με υπερχείλιση με παροχή όγκου 800 μL. Η συσκευή αναρρόφησης/πλύσης δεν πρέπει να παραμένει με το διάλυμα πλύσης για μεγάλες περιόδους, καθώς οι βελόνες μπορεί να φράξουν, με αποτέλεσμα ανεπαρκή παροχή και αναρρόφηση υγρού.
5. Το TMB υποστρώματος HRP είναι πολύ ευαίσθητο σε μόλυνση. Για βέλτιστη σταθερότητα του TMB υποστρώματος HRP, χύστε την απαραίτητη ποσότητα από το φιαλίδιο σε διεξοδικά καθαρισμένο δοχείο ή κατά προτίμηση σε αναλώσιμο πλαστικό δίσκο, για αποφυγή μόλυνσης του αντιδραστηρίου. Βεβαιωθείτε ότι χρησιμοποιείτε αναλώσιμα πλαστικά ρύγχη πιπέτων (ή ρύγχος πιπέτας διανομής).
6. Βεβαιωθείτε ότι χρησιμοποιείτε καθαρά αναλώσιμα πλαστικά ρύγχη πιπέτας και κατάλληλη τεχνική για παροχή με πιπέτα κατά το χειρισμό δειγμάτων και αντιδραστηρίων. Αποφύγετε τη μεταφορά υλικού κρατώντας το ρύγχος της πιπέτας ελαφρώς πάνω από την κορυφή του βοθρίου και αποφύγετε να αγγίξετε το πλαστικό βοθρίο ή την επιφάνεια του υγρού. Η κατάλληλη τεχνική παροχής με πιπέτα είναι ιδιαίτερα σημαντική κατά το χειρισμό του διαλύματος TMB υποστρώματος HRP.

| | |
|---------------------------------|---|
| Παρασκευή αντιδραστηρίων | Σταθερότητα του παρασκευασμένου αντιδραστηρίου |
|---------------------------------|---|

| | |
|-------------------------|---|
| Βαθμονομητές NSE | 4 εβδομάδες στους 2—8°C 3 μήνες σε -20°C |
|-------------------------|---|

Προσθέστε ακριβώς 0,75 mL απεσταγμένου νερού σε κάθε φιαλίδιο και αναμείξτε με απαλές κινήσεις. Αφήστε το να ηρεμήσει για τουλάχιστον 15 λεπτά για ανασύσταση. ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Η συγκέντρωση των βαθμονομητών αναφέρεται στις ετικέτες και θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί για υπολογισμό των αποτελεσμάτων.

| | |
|-----------------------|---|
| Διάλυμα πλύσης | 2 εβδομάδες στους 2—25°C σε σφραγισμένο δοχείο |
|-----------------------|---|

Χύστε το συμπύκνωμα πλύσης 50 mL σε καθαρό δοχείο και αραιώστε 25 φορές με την προσθήκη 1200 mL απεσταγμένου ή απιονισμένου νερού για τη δημιουργία ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης.

| | |
|----------------------------|-------------------------|
| Διάλυμα αντισώματος | 3 εβδομάδες στους 2—8°C |
|----------------------------|-------------------------|

Προετοιμάστε την απαραίτητη ποσότητα διαλύματος αντισώματος αναμειγνύοντας 50 µL ιχνηθέτη, HRP anti-NSE με 1 mL anti-NSE βιοτίνης ανά strip (δείτε τον πίνακα παρακάτω):

| Αρ. βοθρίων | Ιχνηθέτης, HRP anti-NSE (µL) | Anti-NSE βιοτίνης (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 |

Πρέπει να χρησιμοποιηθεί καθαρή πλαστική ή γυάλινη φιάλη για την παρασκευή του διαλύματος αντισώματος.

Εναλλακτική: Χύστε το περιεχόμενο του ιχνηθέτη, HRP anti-NSE στο φιαλίδιο του anti-NSE βιοτίνης και αναμείξτε απαλά. Βεβαιωθείτε ότι όλο το περιεχόμενο του ιχνηθέτη μεταφέρεται στο φιαλίδιο του αντισώματος anti-NSE βιοτίνης.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Το διάλυμα αντισώματος είναι σταθερό για 3 εβδομάδες στους 2—8°C. Μην παρασκευάσετε περισσότερο διάλυμα αντισώματος από την ποσότητα που θα χρησιμοποιηθεί εντός αυτής της περιόδου και βεβαιωθείτε ότι έχει αποθηκευθεί σωστά.

Φύλλο Πρωτοκόλλου

CanAg NSE EIA REF **420-10**

Αναμείξτε τα συστατικά ακριβώς πριν από τη χρήση. Χρησιμοποιήστε τις συνθήκες ανάδευσης σύμφωνα με τις οδηγίες.

| Βήμα | Φιάλη/πλάκα | Διαδικασία | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------------|--|------------------------|----------|---|----------|---|-------------|-------------------|------------------------|---|----|---|---|-----|---|---|-----|---|---|-----|---|---|-----|---|---|-----|---|
| 1. Παρασκευή βαθμονομητών NSE | <table border="1"><tr><td>CAL</td><td>NSE</td></tr></table> A, B, C, D, E | CAL | NSE | Προσθέστε 0,75 mL απεσταγμένου νερού σε κάθε φιαλίδιο και αναμείξτε με απαλές κινήσεις. Αφήστε το να ηρεμήσει για τουλάχιστον 15 λεπτά. ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Η ακριβής συγκέντρωση για κάθε βαθμονομητή αναφέρεται στην ετικέτα. Αυτή η τιμή των βαθμονομητών θα πρέπει να χρησιμοποιείται για υπολογισμούς. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CAL | NSE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2. Παρασκευή διαλύματος πλύσης | <table border="1"><tr><td>WASHBUF</td><td>25X</td></tr></table> | WASHBUF | 25X | Αραιώστε 50 mL συμπυκνώματος πλύσης με 1200 mL απεσταγμένου ή αποιονισμένου νερού. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| WASHBUF | 25X | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3. Παρασκευή διαλύματος αντισώματος | <table border="1"><tr><td>CONJ</td><td>Anti-NSE</td></tr></table> <table border="1"><tr><td>BIOTIN</td><td>Anti-NSE</td></tr></table> | CONJ | Anti-NSE | BIOTIN | Anti-NSE | Αναμείξτε 50 µL γλυθέρη HRP anti-NSE με 1 mL anti-NSE βιοτίνης ανά βοθρίο: <table border="1"><thead><tr><th>Αρ. βοθρίων</th><th>Anti-NSE HRP (µL)</th><th>Anti-NSE βιοτίνης (mL)</th></tr></thead><tbody><tr><td>1</td><td>50</td><td>1</td></tr><tr><td>2</td><td>100</td><td>2</td></tr><tr><td>3</td><td>150</td><td>3</td></tr><tr><td>4</td><td>200</td><td>4</td></tr><tr><td>5</td><td>250</td><td>5</td></tr><tr><td>6</td><td>300</td><td>6</td></tr></tbody></table> | Αρ. βοθρίων | Anti-NSE HRP (µL) | Anti-NSE βιοτίνης (mL) | 1 | 50 | 1 | 2 | 100 | 2 | 3 | 150 | 3 | 4 | 200 | 4 | 5 | 250 | 5 | 6 | 300 | 6 |
| CONJ | Anti-NSE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BIOTIN | Anti-NSE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Αρ. βοθρίων | Anti-NSE HRP (µL) | Anti-NSE βιοτίνης (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 |

| | | | |
|--------|-------------------------------------|---|---|
| 4. | Πλύση | MICROPLA | Πλύντε κάθε βοθρίο μία φορά με διάλυμα πλύσης |
| 5. | Προσθήκη βαθμονομητών και δειγμάτων | CAL NSE A, B, C, D, E | 25 µL σε κάθε βοθρίο |
| 6. | Προσθήκη διαλύματος αντι σώματος | ΔΙΑΛΥΜΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟΣ | 100 µL σε κάθε βοθρίο |
| 7. | Επίωση | MICROPLA | 1 ώρα ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου |
| 8. | Πλύση | MICROPLA | Πλύντε κάθε βοθρίο έξι φορές με διάλυμα πλύσης |
| 9. | Προσθήκη TMB υποστρώματος HRP | SUBS TMB | 100 µL σε κάθε βοθρίο |
| 10. | Επίωση | MICROPLA | 30 λεπτά ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου |
| 11. | Μέτρηση απορρόφησης | MICROPLA | 620 nm |
| Alt.11 | Προσθήκη διαλύματος τερματισμού | STOP | 100 µL σε κάθε βοθρίο |
| Alt.12 | Επίωση | MICROPLA | 1 λεπτό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου |
| Alt.13 | Μέτρηση απορρόφησης | MICROPLA | Μέτρηση σε μήκος κύματος 405 nm εντός 15 λεπτών |

Διαδικασία δοκιμής

Πραγματοποιήστε κάθε προσδιορισμό δύο φορές για βαθμονομητές και δείγματα ασθενούς. Η καμπύλη βαθμονόμησης θα πρέπει να εκτελείται με κάθε δοκιμή. Όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα πρέπει να αποκτούν τη θερμοκρασία δωματίου (20—25°C) πριν από τη χρήση.

- Ξεκινήστε με την παρασκευή των βαθμονομητών NSE, του διαλύματος πλύσης και του διαλύματος αντισώματος.
Είναι σημαντικό να χρησιμοποιούνται καθαρά δοχεία. Ακολουθήστε τις οδηγίες με προσοχή.
- Μεταφέρετε τον απαιτούμενο αριθμό βοθρίων μικροπλάκας σε ένα πλαίσιο βοθρίων. (Τοποθετήστε αμέσως τα υπόλοιπα βοθρία στο αλουμινένιο δοχείο που περιέχει αφυγραντικό και σφραγίστε ξανά με προσοχή). Πλύντε κάθε βοθρίο μία φορά με το διάλυμα πλύσης. Μην πλύνετε περισσότερα βοθρία από όσο είναι δυνατόν σε 30 λεπτά.
- Χορηγήστε με πιπέτα 25 μL των βαθμονομητών NSE (CAL A, B, C, D, E) και των δειγμάτων ασθενούς (άγνωστα-Unk) στα βοθρία σύμφωνα με το παρακάτω σχέδιο:

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 κ.λπ. |
|---|----------|-----------|-----------|---|---|---|---------|
| A | Cal A | Cal E | 4o Unk | | | | |
| B | Cal A | Cal E | κ.λπ. | | | | |
| C | Cal B | 1o Unk | | | | | |
| D | Cal B | 1o Unk | | | | | |
| E | Cal C | 2o Unk | | | | | |
| F | Cal C | 2o Unk | | | | | |
| G | Cal D | 3o Unk | | | | | |
| H | Cal D | 3o Unk | | | | | |

- Προσθέστε 100 μL διαλύματος αντισώματος σε κάθε βοθρίο με τη χρήση πιπέτας ακριβείας 100 μL (ή πιπέτας ακριβείας 100 μL με 8 κανάλια). Αποφύγετε τη μεταφορά υλικού κρατώντας το ρύγχος της πιπέτας ελαφρώς πάνω από την κορυφή του βοθρίου και αποφύγετε να αγγίξετε το πλαστικό βοθρίο ή την επιφάνεια του υγρού.
- Επώστε την πλάκα για 1 ώρα (\pm 10 λεπτά) σε θερμοκρασία δωματίου (20-25°C) με διαρκή ανάδευση της πλάκας χρησιμοποιώντας αναδευτήρα μικροπλάκας.

6. Μετά την επώαση, αναρροφήστε και πλύντε τα βοηθία 6 φορές.
7. Προσθέστε 100 µL TMB υποστρώματος HRP σε κάθε βοηθίο με τη χρήση της ίδιας διαδικασίας όπως και στο σημείο 4. Το TMB υποστρώματος HRP θα πρέπει να προστεθεί στα βοηθία όσο το δυνατόν πιο γρήγορα και ο χρόνος μεταξύ της προσθήκης του πρώτου και του τελευταίου βοηθίου δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 5 λεπτά.
8. Επώαστε για 30 λεπτά (\pm 5 λεπτά) σε θερμοκρασία δωματίου με διαρκή ανάδευση. Αποφύγετε την έκθεση στο άμεσο ηλιακό φως.
9. Καταγράψτε αμέσως την απορρόφηση σε μήκος κύματος 620 nm σε φασματοφωτόμετρο μικροπλακών.

Προαιρετικά

Αν το εργαστήριο δεν έχει πρόσβαση σε φασματοφωτόμετρο μικροπλακών που να είναι ικανό για μετρήσεις σε μήκος κύματος 620 nm, η απορρόφηση μπορεί να καθοριστεί όπως στο σημείο 10.

10. Προσθέστε 100 µL διαλύματος τερματισμού, αναμείξτε και μετρήστε την απορρόφηση σε μήκος κύματος 405 nm σε φασματοφωτόμετρο μικροπλακών εντός 15 λεπτών από την προσθήκη του διαλύματος τερματισμού.

Περιοχή τιμών μέτρησης

Η CanAg NSE EIA μετράει συγκεντρώσεις μεταξύ 1 και περίπου 150 µg/L. Αν αναμένονται συγκεντρώσεις NSE πάνω από την περιοχή τιμών μέτρησης, συνιστάται η αραιώση των δειγμάτων με φυσιολογικό ανθρώπινο ορό πριν από την ανάλυση. **ΣΗΜΕΙΩΣΗ:** Ο ορός που χρησιμοποιείται για την αραιώση θα πρέπει επίσης να μετρηθεί για να προσδιοριστεί η ενδογενής συγκέντρωση NSE (ανατρέξτε στην ενότητα "Υπολογισμός αποτελεσμάτων").

Έλεγχος ποιότητας

Συνιστώνται τα CanChek Tumor Marker Control Sera Levels 1 και 2 (διατίθενται ξεχωριστά, REF 107-20) για επικύρωση της σειράς δοκιμών. Αν ληφθούν τιμές εκτός της καθορισμένης περιοχής, πρέπει να γίνει πλήρης έλεγχος των αντιδραστηρίων και της απόδοσης της συσκευής μέτρησης, και η ανάλυση θα πρέπει να επαναληφθεί.

Υλικά αναφοράς

Καθώς δεν είναι διαθέσιμο κοινό υλικό αναφοράς για το αντιγόνο NSE, οι τιμές βαθμονομητή CanAg NSE EIA αντιστοιχίζονται έναντι ενός συνόλου εσωτερικών προτύπων αναφοράς.

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Αν χρησιμοποιείται φασματοφωτόμετρο μικροπλακών με ενσωματωμένο πρόγραμμα υπολογισμού δεδομένων, ανατρέξτε στο εγχειρίδιο για το φασματοφωτόμετρο και δημιουργήστε ένα πρόγραμμα με τη χρήση της συγκέντρωσης που αναφέρεται στην ετικέτα κάθε βαθμονομητή NSE.

Για τον αυτόματο υπολογισμό των αποτελεσμάτων NSE συνιστάται να χρησιμοποιήσετε κάποια από τις παρακάτω μεθόδους:

- Μέθοδος τριτοβάθμιας πολυωνυμικής καμπύλης. Ο βαθμονομητής Α θα πρέπει να συμπεριληφθεί στην καμπύλη με την τιμή 0 μg/L.
- Μέθοδος ομαλοποιημένης πολυωνυμικής καμπύλης. Ο βαθμονομητής Α θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί ως τυφλό.
- Προεκβολή με εκτίμηση σημείου-σε σημείου. Ο βαθμονομητής Α θα πρέπει να συμπεριληφθεί στην καμπύλη με την τιμή 0 μg/L.
- Μέθοδος δευτεροβάθμιας πολυωνυμικής καμπύλης. Ο βαθμονομητής Α θα πρέπει να συμπεριληφθεί στην καμπύλη με την τιμή 0 μg/L.

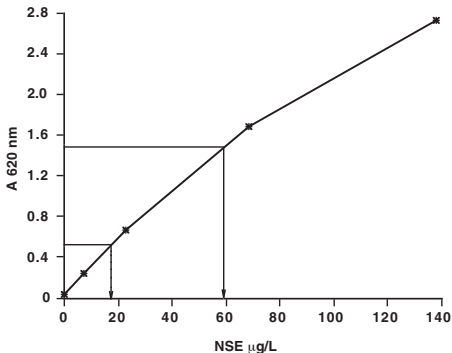
ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Δεν πρέπει να χρησιμοποιηθούν οι μέθοδοι εκτίμησης παραμετρικής παλινδρόμησης με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων ή γραμμικής παλινδρόμησης.

Για μη αυτόματη εκτίμηση, δημιουργείται μια καμπύλη βαθμονόμησης με τη γραφική αναπαράσταση των τιμών απορρόφησης (A) που λαμβάνονται για κάθε βαθμονομητή NSE έναντι της αντίστοιχης συγκεντρώσεως NSE (σε μg/L), δείτε την εικόνα. Οι τιμές για τις άγνωστες συγκεντρώσεις NSE λαμβάνονται από την καμπύλη βαθμονόμησης με τη χρήση της τιμής μέσης απορρόφησης για κάθε δείγμα ασθενούς. Αν τα δείγματα σε μια αρχική ανάλυση δίνουν επίπεδα NSE πάνω από τη συγκεντρωσή του βαθμονομητή E, είναι απαραίτητο το διάλυμα να αραιωθεί σε αναλογία 1/10 με φυσιολογικό ανθρώπινο ορό για τη λήψη αποτελεσμάτων ακριβείας. Το αποτέλεσμα θα πρέπει να υπολογιστεί σύμφωνα με την παρακάτω διαδικασία:

$$\text{Αραίωση 1/10: } 10 \times ([\text{NSE}]_{\text{Αραιωμένο δείγμα}} - (0,9 \times [\text{NSE}]_{\text{Φυσιολογικός ανθρώπινος ορός}}))$$

Παράδειγμα αποτελεσμάτων

| Δείγμα | Τιμές βαθμονομητή | Μέση τιμή απορρόφησης (A) | NSE (μg/L) |
|---------------|-------------------|---------------------------|------------|
| CAL NSE A | 0 μg/L | 0,037 | |
| CAL NSE B | 7,5 μg/L | 0,238 | |
| CAL NSE C | 22,9 μg/L | 0,663 | |
| CAL NSE D | 68,4 μg/L | 1,688 | |
| CAL NSE E | 138,0 μg/L | 2,720 | |
| Δείγμα 1 | | 0,518 | 17,5 |
| Δείγμα 2 | | 1,474 | 57,8 |



Παράδειγμα, να μην χρησιμοποιηθεί αυτή η καμπύλη για τον προσδιορισμό των αποτελεσμάτων δοκιμής. Η ακριβής συγκέντρωση NSE αναφέρεται στην ετικέτα για κάθε φιαλίδιο βαθμονομητή.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Το επίπεδο της NSE δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως απόλυτη ένδειξη της παρουσίας ή απουσίας κακοήθους νοσήματος και η εξέταση NSE δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται στον έλεγχο για καρκίνο. Τα αποτελέσματα της εξέτασης θα πρέπει να ερμηνευθούν μόνο σε συνδυασμό με άλλες διερευνήσεις και διαδικασίες για τη διάγνωση της νόσου και η εξέταση NSE δεν θα πρέπει να αντικαταστήσει την καθιερωμένη κλινική εξέταση.

Σε ασθενείς που υφίστανται αιμοκάθαρση και σε ασθενείς με λευχαιμικά νοσήματα μπορεί να προκύψουν αυξημένες τιμές NSE που δεν οφείλονται σε όγκους.

Ο ορός δεν πρέπει να περιέχει ορατή αιμόλυση (η απορρόφηση σε μήκος κύματος 500 nm για μη θολερό δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,3) καθώς οι ηλεκτρολύτες περιέχουν σημαντικές ποσότητες NSE (7). Η παρατεταμένη αποθήκευση ολικού αίματος μπορεί να προκαλέσει έκλυση NSE από ανθρώπινα κύτταρα.

Τα αντι-αντιδραστικά αντισώματα (ανθρώπινα αντισώματα έναντι των πρωτεϊνών από ποντίκι (HAMA) ή ετεροφιλικά αντισώματα) στο δείγμα ασθενούς μπορεί περιστασιακά να παρέμβουν στη δοκιμή, ακόμα και αν έχουν συμπεριληφθεί συγκεκριμένοι ανασταλτικοί παράγοντες στο ρυθμιστικό διάλυμα.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Τα υγιή άτομα αναμένεται να έχουν τιμές NSE κάτω από 13 μg/L. Συνιστάται κάθε εργαστήριο να καθιερώσει τη δική του περιοχή φυσιολογικών τιμών για παράγοντες του τοπικού περιβάλλοντος, όπως διατροφή, κλίμα, συνθήκες διαβίωσης, επιλογή ασθενούς κ.λπ.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Ακρίβεια

Η συνολική ακρίβεια προσδιορίστηκε σύμφωνα με την κατευθυντήρια οδηγία EP5-A (8) του NCCLS με τη χρήση τεσσάρων επιπέδων κατεψυγμένων ποσοτήτων ανθρώπινου ορού που περιέχουν πρόσθετη NSE. Κάθε δείγμα χορηγήθηκε τυχαίοποιημένα με πιπέτα δύο φορές και αναλύθηκε δύο φορές κάθε ημέρα, για 20 ημέρες. Οι αναλύσεις έγιναν σε περίοδο 40 ημερών από \geq τρεις διαφορετικούς τεχνικούς και χρησιμοποιήθηκαν 20 διαφορετικές παρτίδες kit CanAg NSE EIA.

| Δείγμα | Επαναλήψεις | Μέση τιμή (μg/L) | Τυπική απόκλιση SD στον ίδιο αναλυτικό κύκλο (μg/L) | Συντελεστής μεταβλητότητας στον ίδιο αναλυτικό κύκλο CV% | Τυπική απόκλιση SD μεταξύ ημερών (μg/L) | Συντελεστής μεταβλητότ. μεταξύ ημερών 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 |

Όριο ανίχνευσης

Το όριο ανίχνευσης της CanAg NSE EIA είναι < 1 μg/L, το οποίο ορίζεται ως τη συγκέντρωση που αντιστοιχεί στη μέση τιμή απορρόφησης του βαθμονομητή NSE A συν 2 τυπικές αποκλίσεις σύμφωνα με τον τύπο:

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

Φαινόμενο άγκιστρου

Δεν παρατηρήθηκε φαινόμενο άγκιστρου για συγκεντρώσεις NSE μέχρι 200.000 μg/L.

Γραμμικότητα

Τα δείγματα ασθενούς αραιώθηκαν με φυσιολογικό ορό και αναλύθηκαν. Οι τιμές που ελήφθησαν ήταν μεταξύ 93—101% των αναμενόμενων τιμών.

Ειδικότητα

Τα μονοκλωνικά αντισώματα που χρησιμοποιούνται είναι ειδικά για την υπομονάδα γ της ενολάσης. Δεν παρατηρήθηκαν μετρήσιμες διασταυρούμενες αντιδράσεις με άλλη ενολάση. Ακολουθήθηκε η κατευθυντήρια οδηγία EP7-P (9) του NCCLS για τον προσδιορισμό πιθανών πηγών παρεμβολών. Οι παρακάτω ουσίες και συγκεντρώσεις εξετάστηκαν και βρέθηκαν ότι δεν παρεμβαίνουν στην εξέταση.

| | Συγκέντρωση χωρίς σημαντική (± 10%) παρεμβολή |
|----------------------------|--|
| Λιπαιμία (Intralipid®) | 10 mg/mL |
| Χολερυθρίνη, μη συζευγμένη | 0,6 mg/mL |

ΕΓΓΥΗΣΗ

Η λήψη των δεδομένων απόδοσης που παρουσιάζονται εδώ έγινε με τη διαδικασία δοκιμής που αναφέρεται. Οποιαδήποτε αλλαγή ή τροποποίηση της διαδικασίας που δεν συνιστάται από την Fujirebio Diagnostics μπορεί να επηρεάσει τα αποτελέσματα. Σε αυτή την περίπτωση, η Fujirebio Diagnostics αποποιείται όλων των εγγυήσεων, ρητών, σιωπηρών ή θεσμικών, συμπεριλαμβανομένης σιωπηρής εγγύησης εμπροφυσιμότητας και καταλληλότητας για χρήση.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΑΡΑΠΟΜΠΕΣ

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).



Το CanAg® είναι σήμα κατατεθέν της Fujirebio Diagnostics AB

Fujirebio Diagnostics AB

Elof Lindälvs gata 13

SE-414 55 Göteborg

Sweden

Τηλέφωνο + 46 31 85 70 30

Φαξ + 46 31 85 70 40

info@fdab.com

www.fdab.com

