

Prolifigen® NSE IRMA

Immunoradiometric assay for the quantification of
Neuron Specific Enolase (NSE)

Instruction Manual

Manuel d'Instructions

Testanleitung

Manual de Instrucciones

Manuale di Istruzioni

Brugsanvisning

Bruksanvisning

Návod k použití

Εγχειρίδιο οδηγιών

REF: 324.560

DiaSorin

Stillwater, Minnesota 55082-0285, U.S.A.

TABLE OF CONTENTS

English	Page 1
Français	7
Deutsch	13
Español	19
Italiano.....	26
Dansk	32
Svenska	38
Česky	44
Ελληνικά	50

Intended Use

Prolifigen[®] NSE IRMA is an *in vitro* assay for the quantitative determination of neuron-specific enolase (NSE) in human serum used for the management of patients with suspected or diagnosed neuroblastoma and small cell lung carcinoma.

Principle of the Procedure

The Prolifigen[®] NSE IRMA is a monoclonal two-site single incubation immunoradiometric (sandwich) assay. The sample is incubated with a plastic bead coated with antibody to NSE and an antibody against NSE labelled with ¹²⁵I. After washing unreacted radioactive antibody off the bead, the radioactivity bound to the bead is measured using a gamma counter.

Warnings and Precautions for Users

1. General

- This product is for *in vitro* diagnostic use only.
- This kit must not be used after the expiry date printed on the package.
- Do not mix reagents from different master lots.
- The accuracy of the results of this assay is directly related to the degree of care exercised during pipetting, vortexing, aspiration, and adherence to methodology and temperature requirements.
- Sodium azide used as a preservative in this product can cause irritation, so avoid contact with the skin and mucosa.
- Avoid microbial contamination of reagents.
- Observe the normal precautions required for handling all laboratory reagents.
- Disposal of all waste material should be in accordance with local guidelines.
- The components of the kit as well as the patients' sera should be considered as if they were potentially infectious and should be handled with adequate precautions.
- Material Safety data sheets are available on request.

2. Radioactive material

Reagents Containing Iodine-125

This kit contains radioactive material which does not exceed 5.1 μ Ci (188 kBq) of iodine-125. Appropriate precautions and good laboratory practices should be used in the storage, handling, and disposal of this material.

For practitioners or institutions receiving radioisotopes under a general license:

This radioactive material may be received, acquired, possessed, and used only by physicians, veterinarians in the practice of veterinary medicine, clinical laboratories, or hospitals, and only for *in vitro* clinical or laboratory tests not involving internal or external administration of the material, or the radiation therefrom, to human beings or animals. Its receipt, acquisition, possession, use, and transfer are subject to the regulations and the general license of the U.S. Nuclear Regulatory Commission or of the state with which the Commission has entered into an agreement for the exercise of regulatory authority.

1. Storage of radioactive material should be limited to a specifically designated area.
2. Access to radioactive materials must be limited to authorized personnel only.
3. Do not pipette radioactive material by mouth.
4. Do not eat or drink within designated radioactive work areas.
5. Areas where spills may occur should be wiped up, then washed with an alkali detergent or radiological decontamination solution. Any glassware used must be rinsed completely with water before washing with other laboratory glassware.

For practitioners or institutions receiving radioisotopes under a specific license:

The receipt, use, transfer, and disposal of radioactive materials are subject to the regulations and conditions of your specific license.

WARNING: This product contains a chemical known to the State of California to cause cancer.

ATTENTION: Radioactivity printed in the package insert may be slightly different from the radioactivity printed on the box label and on the tracer vial label. The box label and the tracer vial label indicate the actual amount of radioactivity at the calibration date where the package insert indicates the theoretical radioactivity of the kit.

Components of kit

The following reagents are supplied with each test kit for 50 assay tubes.

1. **Prolifigen® NSE IRMA Antibody-coated beads**
1 bottle containing >50 dry beads coated with monoclonal anti-NSE antibody.
2. **Prolifigen® NSE IRMA Tracer**
1 x 11 mL vial containing ¹²⁵I labelled monoclonal anti-NSE antibody. Total radioactivity less than 188 kBq (5.1 µCi). Red coloured to aid identification.
3. **Prolifigen® NSE IRMA Calibrators**
6 x 0.5 mL vials containing lyophilized NSE material; concentrations of 0, 2, 6, 20, 60 and 200 µg/L respectively.
4. **Prolifigen® NSE IRMA Diluent**
1 x 2.5 mL vial containing TRIS buffer with bovine serum albumin (also used as zero standard).
5. **Prolifigen® NSE IRMA Control, 1 & 2**
2 x 0.5 mL vial containing NSE in buffer, lyophilized.

Note: Reagents 2, 3, 4 & 5 above contain <0.1 % sodium azide as a preservative.

Each kit of Prolifigen® NSE IRMA is sufficient for 17 samples, controls and one calibrator curve in duplicate. If larger numbers of tubes are required, use pooled and mixed reagents from kits bearing the same kit lot number only. Mix gently to avoid foaming.

Prolifigen® NSE IRMA kit should be stored at 2–8°C prior to use.

Other materials required but not provided

- Polystyrene round bottomed test tubes (12x70–75 mm), disposable.
- Test tube rack.
- Micropipette (25 µL) and microdispensers (200 µL, 500 µL, 2.5 mL).
- Purified water of good quality.
- Vortex mixer.
- Bead washing system, or 2 mL repeating dispenser for addition of wash fluid and a vacuum aspiration device.
- Gamma counter set for ¹²⁵Iodine. Efficiency of counter should be >40%.
- Plastic forceps or bead dispenser for adding beads to tubes.
- Facilities for handling and disposal of radioactive material including protective gloves and other personal protective devices.
- Computer with program for evaluation of IRMA type curves or calculator and graph paper, lin-log type.

Traceability of calibrators and controls

The calibrators and controls of the kit consist of neuron-specific enolase (NSE). This NSE originates from purified and well-characterized material. Calibrators and Controls are calibrated against in-house reference NSE material.

Specimen collection, preparation & storage

- Serum only can be used for the quantitative determination of NSE. Plasma is not recommended as NSE may be released from the thrombocytes.
- Blood samples should be taken before any treatment is given, either initial or repeat.
- Collect samples using standard procedures. *Prolonged storage of blood can release NSE from the blood cells.*
- If the specimen is to be assayed within 72 hours, store at 2-8°C. If the specimen will not be assayed within 72 hours, freeze to below -18°C.
- Do not use samples which are visibly haemolytic (the absorbance at 500 nm of the sample should not exceed 0.3), contaminated or grossly lipaemic.
- Samples which have been found to contain >200 µg/L can be diluted with NSE IRMA diluent to get exact values. Diluted samples must be gently but thoroughly mixed prior to assay and the dilution factor taken into account in the final calculation.
- Frozen sera must be gently but thoroughly mixed after thawing.

Preparation of reagents before use

To each of the vials of NSE IRMA Calibrators and Controls, add 500 µL purified water. Mix gently, allow to stand for 15 min at room temperature (18–30°C) and mix gently just prior to use.

Allow kit contents to warm to room temperature before use. Mix each vial well before use.

Storage of reagents after use

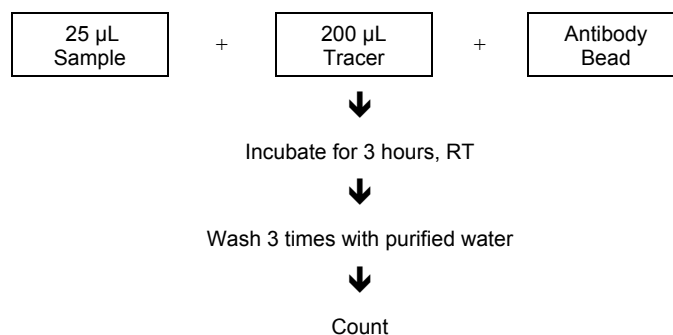
If all the kit is not used at one time, the NSE IRMA Tracer and NSE IRMA Antibody-coated beads can be stored at 2–8°C until the expiry date of the kit. The NSE IRMA Calibrators and the NSE IRMA Controls must be used within 72 hours if stored at 2–8°C or else frozen to below -18°C. Repeated freezing and thawing must be avoided. Bacterial contamination of stored reagents must be avoided.

Assay procedure

Perform each determination in duplicate.

1. Add 25 µL NSE IRMA Calibrator, patient serum or NSE IRMA Control to each appropriately marked tube.
2. Add 200 µL NSE IRMA Tracer to each tube. (Solution has a red colour.) To estimate total counts (T), add 200 µL Tracer to a tube. Count the radioactivity without further processing.
3. Add one plastic bead to each tube using plastic forceps or a bead dispenser.
4. Incubate the tubes for 3±0.5 hours at room temperature (18–30°C).
5. Wash each bead 3 times with 2 mL purified water each time.
6. Count radioactivity in a gammacounter.

Flow Diagram of Method



Processing of results

Use a computer with a program for handling IRMA type data to evaluate the NSE levels in reference sera and patient sera. Alternatively, counts or bound activity (% B/T) may be plotted manually against analyte concentration. For this purpose, lin-log diagram paper is recommended.

Quality Control

It is recommended that the laboratory has its own set of quality control calibrators, in addition to the NSE IRMA Controls 1 and 2 provided in the kit.

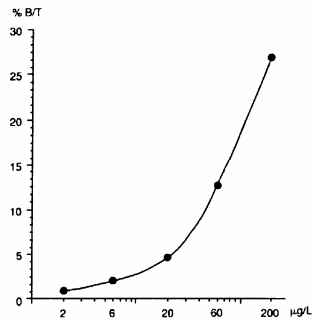
Example of results

This is an **example** only and should not be used in the calculations.

Sample	CPM	% B/T	NSE µg/L
Total (T)	132 601	–	–
B ₀	720	0.5	–
Calibrator 2 µg/L	1 369	1.0	2.0
Calibrator 6 µg/L	2 655	2.0	6.0
Calibrator 20 µg/L	6 043	4.6	20.0
Calibrator 60 µg/L	16 589	12.5	60.0
Calibrator 200 µg/L	35 488	26.8	200.0
Patient sample 1	3 377	2.6	9.5
Patient sample 2	6 195	4.7	20.5
Patient sample 3	13 930	10.5	48.6

Example of calibrator curve

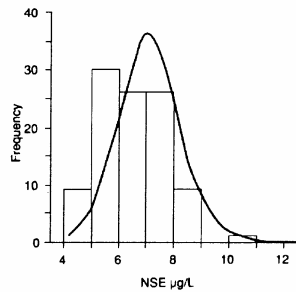
This is an **example** only and should not be used in the calculations.



Expected Values and Limitations of the procedure

In a study of 100 apparently healthy individuals, >95 % were found to have serum NSE values of less than 12.5 µg/L. The distribution is shown in the figure below.

Distribution of NSE in normal subjects



Test characteristics

Precision

Precision in 10 determinations using 5 different lots of Prolifigen® NSE IRMA.

Sample	Mean µg/L	Coefficient of variation Within assay	% Total
1	7.8	8.2	10.6
2	14.5	9.8	11.6
3	58.7	7.5	11.2
4	112.3	8.4	14.2

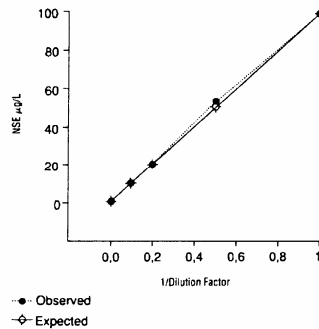
Recovery

To a serum sample containing 7.7 µg/L of NSE, varying quantities of NSE were added and the concentration determined:

NSE added µg/L	Expected µg/L	Observed µg/L	Recovery %
170.0	177.7	178.3	100.3
34.0	41.7	41.9	100.5
17.0	24.7	24.7	100.0
3.4	11.1	10.9	98.2
1.7	9.4	9.0	95.7

Dilution curve

Dilution of a serum sample with NSE IRMA diluent.



Sensitivity

Minimum measurable NSE value (B_0 value + 3 SD) 0.5 µg/L.

Measuring range

The measuring range is up to 200 µg/L. Values above 200 µg/L can be measured after diluting the sample with NSE IRMA diluent and repeating the assay.

B_0/T

B_0 should be less than 1% of T.

Indication

Prolifigen® NSE IRMA est un dosage *in vitro* pour la détermination quantitative de l'énolase neuro-spécifique (NSE) dans le sérum humain. Il est utilisé pour le suivi des patients atteints ou présumés atteints de neuroblastome ou de carcinome pulmonaire à petites cellules.

Principe de la procédure

Prolifigen® NSE IRMA est un dosage radio-immunométrique (principe du sandwich) monoclonal à deux sites et une seule incubation. L'échantillon est incubé avec une bille de plastique coatée à l'antigène NSE et un anti-corps anti-NSE marqué à l'iode 125. Après avoir éliminé l'anticorps radioactif non réagi de la bille, mesurer la réactivité liée à celle-ci à l'aide d'un compteur à rayons gamma.

Avertissements et précautions pour les utilisateurs

1. Informations générales

- Ce produit est à usage *in vitro* uniquement.
- Cette trousse ne doit pas être utilisée au-delà de la date de péremption indiquée sur l'emballage.
- Ne pas mélanger les réactifs de lots différents.
- La précision des résultats de ce dosage est directement liée au degré d'attention lors des phases de pipetage, d'agitation sur le vortex, d'aspiration et au respect des méthodes et températures.
- L'azide de sodium utilisé comme conservateur peut provoquer une irritation : éviter le contact avec la peau et les muqueuses.
- Eviter la contamination microbienne des réactifs.
- Observer les précautions normales lors de la manipulation de tous les réactifs de laboratoire.
- La mise au rebut de tous les produits usagés doit être conforme aux directives locales.
- Les composants de la trousse et les sérums des patients doivent être considérés comme potentiellement infectieux ; ils doivent donc être manipulés en adoptant les précautions de rigueur.
- Des feuilles de données sur la sécurité du produit sont disponibles sur demande.

2. Produit radioactif

Réactifs contenant de l'iode 125

Cette trousse contient un produit radioactif qui ne dépasse pas 5,1 µCi (188 kBq) d'iode-125. Les précautions appropriées et les bonnes pratiques de laboratoire doivent être utilisées pour la conservation, la manipulation et la mise au rebut de ce produit.

Pour les praticiens ou les établissements recevant des radio-isotopes dans le cadre d'une licence générale :

Ce produit radioactif peut être reçu, réceptionné, détenu et utilisé uniquement par des médecins, des laboratoires cliniques, des hôpitaux, des vétérinaires et des centres de recherche dans le cadre de la pratique de médecine vétérinaire, de laboratoires cliniques ou des hôpitaux, et uniquement pour des analyses cliniques ou de laboratoire *in vitro* n'impliquant pas l'administration interne ou externe du produit, ni par rayonnement, à l'homme ou à l'animal. Sa réception, son acquisition, sa détention, son utilisation et son transfert sont sujets aux réglementations et à la licence générale de l'U.S. Nuclear Regulatory Commission de l'État avec lequel la Commission a conclu un accord pour l'exercice de l'autorité réglementaire.

1. Le produit radioactif doit être conservé à un endroit désigné.
2. L'accès aux produits radioactifs doit être limité au personnel autorisé uniquement.
3. Ne pas pipeter des solutions radioactives avec la bouche.

4. Ne pas manger, ni boire dans les zones de travail radioactives.
5. En cas de déversement de produits radioactifs dans une zone, nettoyer la zone, puis la laver à l'aide d'un produit détergent à base d'alcali ou d'une solution de décontamination radioactive. Tout article de verre utilisé doit être entièrement lavé à l'eau avant de laver les autres articles de verre du laboratoire.

Pour les praticiens ou les établissements recevant des radio-isotopes dans le cadre d'une licence spécifique :

La réception, l'utilisation, le transfert et la mise au rebut de produits radioactifs sont sujets aux réglementations et conditions de votre licence spécifique.

AVERTISSEMENT : Ce produit contient un produit chimique connu dans l'Etat de Californie comme étant cancérigène.

ATTENTION : La radioactivité imprimée sur la notice d'utilisation peut être légèrement différente de celle qui est imprimée sur l'étiquette de la boîte et sur l'étiquette du flacon du traceur. Les étiquettes de la boîte et du flacon du traceur indiquent la dose réelle de radioactivité à la date de calibrage, alors que la notice d'utilisation indique la radioactivité théorique de la trousse.

Composants de la trousse

Les réactifs suivants sont fournis dans chaque trousse de dosage pour 50 tubes à essais :

1. **Billes coatées à l'anticorps Prolifigen® NSE IRMA**
1 bouteille contenant >50 billes sèches coatées à l'anticorps monoclonal anti-NSE.
2. **Traceur Prolifigen® NSE IRMA**
1 flacon de 11 mL contenant un anticorps monoclonal anti-NSE marqué à l'Iode 125. Radioactivité totale inférieure à 188 kBq (5,1 µCi). Coloration rouge pour faciliter son identification.
3. **Étalons Prolifigen® NSE IRMA**
6 flacons de 0,5 mL contenant un produit NSE lyophilisé; concentrations respectives 0, 2, 6, 20, 60 et 200 µg/L.
4. **Diluant Prolifigen® NSE IRMA**
1 flacon de 2,5 mL contenant un tampon TRIS avec de l'albumine de sérum bovin (également utilisée comme étalon zéro).
5. **Contrôles 1 et 2 Prolifigen® NSE IRMA**
2 flacons de 0,5 mL contenant un tampon de NSE lyophilisé.

Remarque : les réactif 2, 3, 4 et 5 ci-dessus contiennent <0,1 % d'azide de sodium comme conservateur.

Chaque trousse Prolifigen® NSE IRMA est suffisante pour 17 échantillons, contrôles et une courbe d'étalonnage en double. Si un plus grand nombre de tubes à essais est nécessaire, utiliser un ensemble de sérums mélangés provenant de trousse comportant le même numéro de lot. Mélanger délicatement en évitant la formation de mousse.

La trousse Prolifigen® NSE IRMA doit être conservée à 2–8°C avant utilisation.

Autre matériel requis mais non fourni

- Tubes à essais en polystyrène à fond arrondi (12 x 70–75 mm) jetables.
- Portoir pour tubes à essais.
- Micropipettes (25 µL) et microdistributeurs (200 µL, 500 µL, 2,5 mL).
- Eau purifiée de bonne qualité.
- Agitateur vortex.
- Système de lavage des billes, ou distributeur à répétition de 2 mL pour l'ajout de fluide de lavage et un instrument d'aspiration à vide.
- Compteur à rayons gamma paramétré pour l'Iode 125. L'efficacité du compteur doit être >40%.

- Pinces en plastique ou distributeur de billes pour ajouter des billes dans les tubes.
- Equipement pour la manipulation et la mise au rebus des produits radioactifs, y compris des gants de protection et d'autres accessoires de protection personnelle.
- Un ordinateur doté d'un programme d'évaluation des courbes de type IRMA ou une calculatrice et du papier à diagramme de type lin-log.

Traçabilité des étalons et contrôles

Les étalons et contrôles de la trousse consistent en une émolase neuro-spécifique (NSE). Cette NSE est tirée de substances purifiées et bien caractérisées. Les étalons et les contrôles sont calibrés selon une référence interne pour la NSE.

Prélèvement, préparation et conservation de l'échantillon

- Le sérum ne peut être utilisé que pour la détermination quantitative de NSE. Le plasma n'est pas recommandé, car de la NSE peut être sécrétée par les thrombocytes.
- Les échantillons de sang doivent être prélevés avant le début de tout traitement initial ou répété.
- Prélevez les échantillons conformément aux procédures standards. *Une conservation prolongée du sang peut provoquer la sécrétion de NSE par les cellules sanguines.*
- Si l'échantillon doit être dosé dans les 72 heures, le conserver à 2 – 8°C. S'il ne doit pas être dosé dans les 72 heures, le congeler à moins de –18°C.
- Ne pas utiliser d'échantillons visiblement hémolysés (l'absorbance à 500 nm de l'échantillon ne doit pas dépasser 0,3), contaminés ou fortement lipémiques.
- Les échantillons qui contiennent >200 µg/L peuvent être dilués à l'aide du diluant NSE IRMA afin d'obtenir des valeurs exactes. Les échantillons dilués doivent être soigneusement mélangés avant le dosage; tenir compte du facteur de dilution dans le calcul final.
- Les sérums congelés doivent être soigneusement mélangés après la décongélation.

Préparation des réactifs avant l'utilisation

Ajouter à chaque flacon d'étalon et contrôle NSE IRMA 500 µL d'eau purifiée. Mélanger lentement, laisser reposer 15 min à température ambiante (18–30°C) puis mélanger soigneusement juste avant l'utilisation.

Laisser le contenu de la trousse atteindre la température ambiante avant l'utilisation. Bien mélanger chaque flacon avant l'utilisation.

Conservation des réactifs après l'utilisation

Si la trousse complète n'est pas utilisée en une seule fois, le traceur NSE IRMA et les billes coatées à l'anticorps peuvent être conservés jusqu'à la date de péremption de la trousse à 2 – 8°C. Les étalons NSE IRMA et les contrôles NSE IRMA doivent être utilisés dans les 72 heures s'ils sont conservés à 2–8°C ; sinon, les congeler à moins de –18°C. Eviter les congélations et décongélation répétées. Eviter la contamination bactérienne des réactifs conservés.

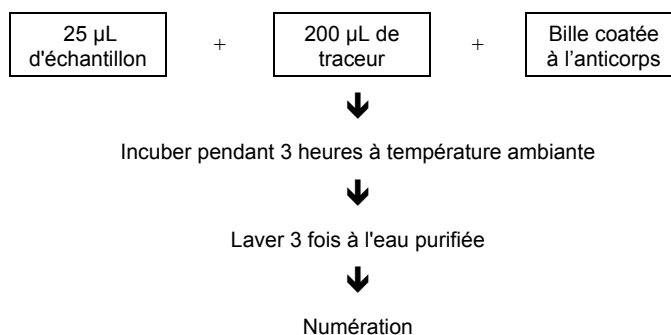
Procédure de dosage

Procéder à chaque dosage en double.

1. Ajouter 25 µL d'étalon NSE IRMA, de sérum du patient ou de contrôle NSE IRMA à chaque tube dûment marqué.
2. Ajouter 200 µL de traceur NSE IRMA à chaque tube. (la solution est rouge.) Pour estimer les numérations totales (T), ajouter 200 µL de traceur à un tube à essais. Compter la radioactivité sans autre traitement.
3. Ajouter une bille de plastique à chaque tube à l'aide d'une pince en plastique ou d'un distributeur de billes.

4. Incuber les tubes pendant $3 \pm 0,5$ heures à température ambiante (18–30°C).
5. Laver 3 fois chaque bille avec 2 mL d'eau purifiée.
6. Compter la radioactivité dans un compteur à rayons gamma.

Organigramme



Traitement des résultats

Utiliser un ordinateur avec un programme pour la manipulation des données de type IRMA afin d'évaluer le taux de NSE dans les sérums de référence et les sérums du patient. En alternative, les numérations ou l'activité liée (% B/T) peuvent être tracés à la main par rapport à la concentration d'analyte. Dans ce but, il est recommandé d'utiliser du papier à diagramme lin-log.

Contrôle qualité

Il est recommandé à chaque laboratoire d'avoir son propre jeu d'étalons de contrôle de qualité en plus des contrôles 1 et 2 NSE IRMA fournis dans la trousse.

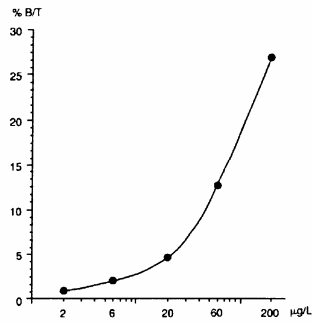
Exemple de résultats

Ceci n'est qu'un **exemple** et ne doit pas être utilisé dans les calculs.

Échantillon	CPM	% B/T	NSE μ g/L
Numération totale (T)	132 601	–	–
B_0	720	0,5	–
Etalon 2 μ g/L	1 369	1,0	2,0
Etalon 6 μ g/L	2 655	2,0	6,0
Etalon 20 μ g/L	6 043	4,6	20,0
Etalon 60 μ g/L	16 589	12,5	60,0
Etalon 200 μ g/L	35 488	26,8	200,0
Echantillon du patient 1	3 377	2,6	9,5
Echantillon du patient 2	6 195	4,7	20,5
Echantillon du patient 3	13 930	10,5	48,6

Exemple de courbe d'étalonnage

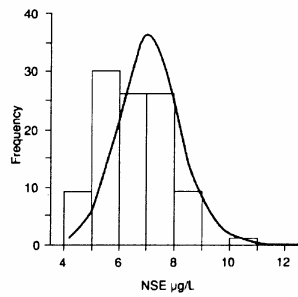
Ceci n'est qu'un **exemple** et ne doit pas être utilisé dans les calculs.



Valeurs attendues et limites de la procédure

Dans une étude conduite sur 100 individus visiblement sains, 95% ont affiché des valeurs de NSE sérique > inférieures à 12,5 µg/L. La distribution est représentée dans le tableau ci-dessous.

Distribution de NSE chez les sujets normaux



Caractéristiques du dosage

Précision

Précision dans 10 dosages à l'aide de 5 lots différents de Prolifigen® NSE IRMA.

Échantillon	Moyenne µg/L	Coefficient de variation dans le dosage	% Total
1	7,8	8,2	10,6
2	14,5	9,8	11,6
3	58,7	7,5	11,2
4	112,3	8,4	14,2

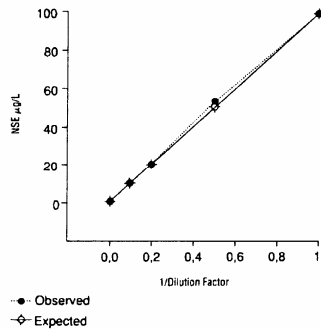
Récupération

Pour un échantillon de sérum contenant 7,7 µg/L de NSE, différentes quantités de NSE ont été ajoutées et la concentration a ensuite été déterminée :

NSE ajoutée µg/L	Attendue µg/L	Observée µg/L	Récupération %
170,0	177,7	178,3	100,3
34,0	41,7	41,9	100,5
17,0	24,7	24,7	100,0
3,4	11,1	10,9	98,2
1,7	9,4	9,0	95,7

Courbe de dilution

Dilution d'un échantillon de sérum à l'aide du diluant NSE IRMA.



Sensibilité

Valeur minimum détectable de NSE (B_0 valeur + 3 SD) 0,5 µg/L.

Plage de mesure

La plage de mesure atteint 200 µg/L. Les valeurs supérieures à 200 µg/L peuvent être mesurées après la dilution de l'échantillon avec le diluant NSE IRMA et en répétant le dosage.

B_0/T

B_0 doit être inférieur à 1% de T.

Verwendungszweck

Der Prolifigen® NSE IRMA ist ein *In-vitro*-Assay zur quantitativen Bestimmung von neuronenspezifischer Enolase (NSE) in Humanserum, die zur Behandlung von Patienten mit vermutetem oder diagnostiziertem Neuroblastom und kleinzelligem Lungenkarzinom dient.

Verfahrensprinzip

Der Prolifigen® NSE IRMA ist ein monoklonaler immunoradiometrischer Two-site-(Sandwich-) Assay mit Einzelinkubation. Die Probe wird mit einem Kunststoffkügelchen, das mit einem Antikörper gegen NSE beschichtet ist, und einem mit ¹²⁵I markierten Antikörper gegen NSE inkubiert. Nach dem Ausspülen von nicht reaktiven radioaktiven Antikörpern aus dem Kügelchen wird die an das Kügelchen gebundene Radioaktivität mit Hilfe eines Gammazählers gemessen.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen für Benutzer

1. Allgemeines
 - Dieses Produkt ist nur zur *In-vitro* -Diagnostik bestimmt.
 - Dieses Kit darf nach dem auf der Packung angegebenen Verfallsdatum nicht verwendet werden.
 - Reagenzien aus verschiedenen Master-Chargen dürfen nicht vermischt werden.
 - Die Genauigkeit der Ergebnisse dieses Assays hängt direkt von dem Ausmaß der beim Pipettieren, Vortexen und Aspirieren angewendeten Sorgfalt sowie der Einhaltung von Verfahrens- und Temperaturanforderungen ab.
 - Da das als Konservierungsmittel in diesem Produkt verwendete Natriumazid zu Reizungen führen kann, ist der Kontakt mit Haut und Schleimhaut zu vermeiden.
 - Mikrobielle Kontamination der Reagenzien vermeiden.
 - Die normalen zur Handhabung aller Laborreagenzien erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen einhalten.
 - Die Entsorgung aller Abfallmaterialien muss den lokalen Richtlinien entsprechen.
 - Die Komponenten des Kits sowie die Patientenserum müssen wie potenziell infektiöse Substanzen und mit angemessenen Vorsichtsmaßnahmen behandelt werden.
 - Material Sicherheitsdatenblätter sind auf Anfrage erhältlich.

2. Radioaktives Material

Reagenzien mit Jod-125

Dieses Kit enthält radioaktives Material mit höchstens 5,1 µCi (188 kBq) Jod-125. Bei der Lagerung, Handhabung und Entsorgung dieses Materials sind entsprechende Vorsichtsmaßnahmen und gute Laborpraktiken einzuhalten.

Für Ärzte bzw. Institutionen, die im Rahmen einer Generallizenz Radioisotope erhalten, gilt Folgendes:

Entgegennahme, Erwerb, Besitz und Verwendung dieses radioaktiven Materials sind nur Ärzten, veterinärmedizinisch tätigen Tierärzten, klinischen Labors oder Krankenhäusern und nur für klinische *In-vitro*-Tests oder *In-vitro*-Labortests gestattet, bei denen kein interner oder externer Kontakt des Materials oder seiner Strahlung mit Menschen oder Tieren stattfindet. Entgegennahme, Erwerb, Besitz, Verwendung und Weitergabe des Materials unterliegen den Vorschriften und der Generallizenz der US Nuclear Regulatory Commission bzw. des Staates, mit dem diese Behörde ein Abkommen zur Ausübung ihrer Überwachungsfunktion abgeschlossen hat.

1. Die Lagerung des radioaktiven Materials ist auf einen speziell dafür bestimmten Bereich zu beschränken.
2. Der Zugang zu radioaktivem Material ist nur befugten Personen zu gestatten.

3. Radioaktives Material nicht mit dem Mund pipettieren.
4. Im vorgesehenen radioaktiven Arbeitsbereich nicht essen oder trinken.
5. Verschüttetes Material abwischen und den Bereich anschließend mit alkalischem Reinigungsmittel oder radiologischer Dekontaminationslösung wischen. Alle benutzten Glasbehälter gründlichst mit Wasser spülen, bevor sie zusammen mit anderen Laborbehältern aus Glas ausgewaschen werden.

Für Ärzte oder Einrichtungen, die im Rahmen einer Sondergenehmigung Radioisotope erhalten, gilt Folgendes:

Entgegennahme, Gebrauch, Weitergabe und Entsorgung radioaktiven Materials unterliegen den Vorschriften und Bedingungen der jeweiligen Sondergenehmigung.

VORSICHT: Dieses Produkt enthält eine Chemikalie, die nach Angaben des US-Bundesstaates Kalifornien krebserregend ist.

WICHTIGER HINWEIS: Die auf der Packungsbeilage angegebene Radioaktivität kann von der auf dem Etikett des Kartons und des Tracer-Fläschchens angegebenen etwas abweichen. Sowohl das Etikett des Kartons als auch das Etikett des Tracer-Fläschchens geben den tatsächlichen Wert der Radioaktivität am Kalibrationsdatum an, während die Packungsbeilage die theoretische Radioaktivität des Kits angibt.

Komponenten des Kits

In jedem Testkit sind die folgenden Reagenzien für 50 Teströhrchen enthalten:

1. **Mit Antikörper beschichtete Prolifigen® NSE IRMA-Kügelchen**
1 Flasche mit >50 mit monoklonalem anti-NSE-Antikörper beschichteten Trockenkügelchen.
2. **Prolifigen® NSE IRMA-Tracer**
1 x 11 mL-Fläschchen mit ¹²⁵I-markiertem monoklonalem anti-NSE-Antikörper. Die Gesamtradioaktivität beträgt weniger als 188 kBq (5,1 µCi). Zur leichteren Bestimmung rot gefärbt.
3. **Prolifigen® NSE IRMA-Kalibratoren**
6 x 0,5 mL-Fläschchen mit lyophilisiertem NSE-Material, Konzentrationen: 0, 2, 6, 20, 60 und 200 µg/L.
4. **Prolifigen® NSE IRMA-Diluent**
1 x 2,5 mL-Fläschchen TRIS-Puffer mit bovinem Serumalbumin (dient auch als Nullstandard).
5. **Prolifigen® NSE IRMA-Kontrollen 1 und 2**
2 x 0,5 mL-Fläschchen NSE in Puffer, lyophilisiert.

Hinweis: Die oben aufgeführten Reagenzien 2, 3, 4 und 5 enthalten < 0,1 % Natriumazid als Konservierungsmittel.

Jedes Prolifigen® NSE IRMA-Kit reicht für 17 Proben und Kontrollen sowie eine Eichkurve in doppelter Ausführung. Wenn eine größere Anzahl an Röhrchen benötigt wird, dürfen nur gepoolte und gemischte Reagenzien aus Kits mit derselben Kit-Chargennummer verwendet werden. Vorsichtig mischen, um Schaumbildung zu vermeiden.

Das Prolifigen® NSE IRMA-Kit sollte vor Gebrauch bei 2–8°C gelagert werden.

Zusätzlich benötigte Materialien

- Runde Polystyrol-Einwegteströhrchen (12 x 70–75 mm).
- Teströhrchenständer.
- Mikropipette (25 µL) und Mikrodispensoren (200 µL, 500 µL und 2,5 mL).
- Destilliertes Wasser guter Qualität.
- Vortex-Mixer.
- Kügelchen-Spülsystem oder 2 mL-Seriendispensor zum Hinzugeben von Spülflüssigkeit und ein Vakuum-Aspirationsgerät.
- Auf Jod¹²⁵ eingestellter Gammazähler. Die Effizienz des Zählers sollte >40 % betragen.

- Kunststoffpinzette oder Kügelchendispenser zum Hinzugeben von Kügelchen zu Röhrchen.
- Vorrichtungen für Handhabung und Entsorgung von radioaktivem Material, einschließlich Schutzhandschuhen und sonstigen persönlichen Schutzvorrichtungen.
- Computer mit einem Programm zur Auswertung von IRMA-Kurven oder Taschenrechner und linear-logarithmisches Millimeterpapier.

Verfolgbarkeit von Kalibratoren und Kontrollen

Die Kalibratoren und Kontrollen des Kits bestehen aus neuronenspezifischer Enolase (NSE). Diese NSE stammt aus gereinigtem und gut charakterisiertem Material. Die Kalibratoren und Kontrollen werden gegen unternehmenseigenes Referenz-NSE-Material kalibriert.

Probengewinnung, -vorbereitung und -lagerung

- Zur quantitativen Bestimmung von NSE kann nur Serum verwendet werden. Plasma wird nicht empfohlen, da NSE aus den Thrombozyten freigesetzt werden kann.
- Blutproben sollten vor einer erstmaligen oder wiederholten Behandlung genommen werden
- Proben mittels Standardverfahren gewinnen. *Durch eine längere Lagerung von Blut kann NSE aus den Blutzellen freigesetzt werden.*
- Die Probe bei 2–8°C lagern, wenn sie innerhalb von 72 Stunden getestet werden soll. Andernfalls die Probe auf –18°C einfrieren.
- Keine sichtbar hämolytischen Proben (der Absorptionswert der Probe bei 500 nm sollte den Wert 0,3 nicht überschreiten), kontaminierten oder stark lipämischen Proben verwenden
- Proben, bei denen ein Gehalt von mehr als >200 µg/L ermittelt wurde, können mit NSE IRMA-Diluent verdünnt werden, um exakte Werte zu erhalten. Verdünnte Proben müssen vor dem Test vorsichtig, jedoch gründlich gemischt werden, und der Verdünnungsfaktor muss bei der endgültigen Berechnung berücksichtigt werden.
- Gefrorene Seren müssen nach dem Auftauen vorsichtig, jedoch gründlich gemischt werden

Vorbereitung der Reagenzien vor Gebrauch

Zu jedem Fläschchen der NSE IRMA-Kalibratoren und -Kontrollen 500 µL destilliertes Wasser geben. Vorsichtig mischen, 15 Minuten bei Raumtemperatur (18–30°C) stehen lassen und kurz vor Gebrauch vorsichtig mischen.

Den Kit-Inhalt vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen. Jedes Fläschchen vor Gebrauch gut schütteln.

Lagerung von Reagenzien nach Gebrauch

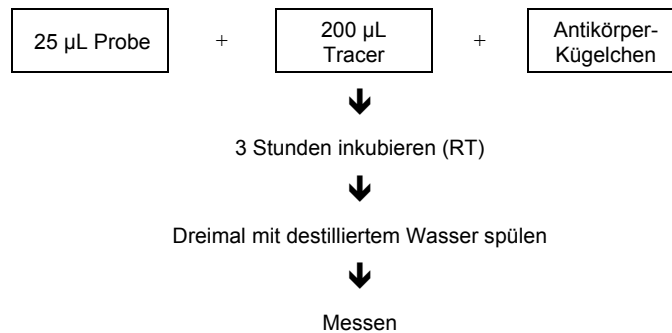
Wenn nicht das gesamte Kit gleichzeitig verwendet wird, können der NSE IRMA-Tracer und die mit Antikörper beschichteten NSE IRMA-Kügelchen bei 2–8°C bis zu dem Verfallsdatum des Kits gelagert werden. Die NSE IRMA-Kalibratoren und die NSE IRMA-Kontrollen müssen im Falle der Lagerung bei 2–8°C innerhalb von 72 Stunden verwendet oder andernfalls auf unter –18°C eingefroren werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen sowie eine bakterielle Kontamination von gelagerten Reagenzien sind zu vermeiden.

Testverfahren

Jede Bestimmung in doppelter Ausführung vornehmen.

1. 25 μL NSE IRMA-Kalibrator, Patientenserum bzw. NSE IRMA-Kontrolle in jedes entsprechend markierte Röhrchen geben.
2. 200 μL NSE IRMA-Tracer in jedes Röhrchen geben. (Die Lösung ist rot gefärbt.) Zur Schätzung der Totalaktivität (T) 200 μL Tracer in ein Röhrchen geben und die Radioaktivität ohne weitere Verarbeitung messen.
3. Mit einer Kunststoffpinzette oder einem Kügelchendispenser ein Kunststoffkügelchen in jedes Röhrchen geben.
4. Die Röhrchen $3 \pm 0,5$ Stunden bei Raumtemperatur ($18\text{--}30^\circ\text{C}$) inkubieren.
5. Jedes Kügelchen bei jedem Durchgang dreimal mit 2 mL destilliertem Wasser spülen.
6. Die Radioaktivität in einem Gammazähler messen.

Flussdiagramm des Verfahrens



Ergebnisverarbeitung

Mit Hilfe eines Computers mit einem Programm zur Verarbeitung von IRMA-Daten die NSE-Konzentrationen in den Referenz- und Patientenseren auswerten. Alternativ dazu können die Ergebnisse oder die gebundene Aktivität (B/T in %) manuell gegen die Analytkonzentration aufgetragen werden. Zu diesem Zweck wird linear-logarithmisches Diagrammpapier empfohlen.

Qualitätskontrolle

Es wird empfohlen, dass das Labor über einen eigenen Satz von Qualitätskontrollkalibratoren zusätzlich zu den im Kit enthaltenen NSE IRMA-Kontrollen 1 und 2 verfügt.

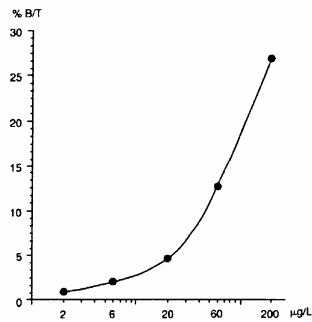
Ergebnisbeispiel

Dies ist nur ein **Beispiel**, das nicht für Berechnungen verwendet werden darf.

Probe	CPM	B/T (%)	NSE ($\mu\text{g/L}$)
Gesamt (T)	132 601	–	–
B ₀	720	0,5	–
Kalibrator 2 $\mu\text{g/L}$	1 369	1,0	2,0
Kalibrator 6 $\mu\text{g/L}$	2 655	2,0	6,0
Kalibrator 20 $\mu\text{g/L}$	6 043	4,6	20,0
Kalibrator 60 $\mu\text{g/L}$	16 589	12,5	60,0
Kalibrator 200 $\mu\text{g/L}$	35 488	26,8	200,0
Patientenprobe 1	3 377	2,6	9,5
Patientenprobe 2	6 195	4,7	20,5
Patientenprobe 3	13 930	10,5	48,6

Beispiel für eine Eichkurve

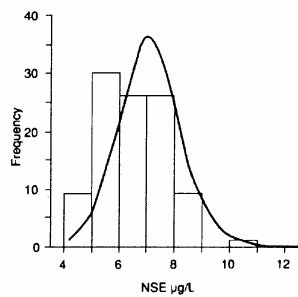
Dies ist nur ein **Beispiel**, das nicht für Berechnungen verwendet werden darf.



Erwartete Werte und Grenzen des Verfahrens

Bei einer Untersuchung von 100 offensichtlich gesunden Personen wurden bei > 95 % der Personen Serum-NSE-Werte von weniger als 12,5 $\mu\text{g/L}$ ermittelt. Die Verteilung ist in der nachfolgenden Abbildung dargestellt.

Verteilung von NSE bei normalen Versuchspersonen



Testmerkmale

Genauigkeit

Genauigkeit bei 10 Bestimmungen mit Hilfe von 5 verschiedenen Prolifigen® NSE IRMA-Chargen

Probe	Mittel (µg/L)	Intra-Assay-Variationskoeffizient	Gesamt (%)
1	7,8	8,2	10,6
2	14,5	9,8	11,6
3	58,7	7,5	11,2
4	112,3	8,4	14,2

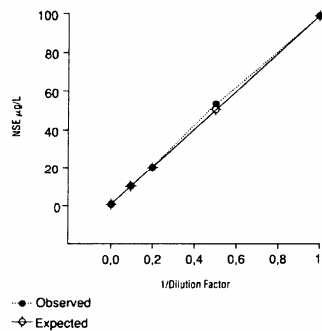
Wiederfindung

Zu einer Serumprobe mit einem NSE-Gehalt von 7,7 µg/L wurden verschiedene NSE-Mengen hinzugegeben, und die Konzentration wurde bestimmt:

NSE-Zugabe (µg/L)	Erwartet (µg/L)	Beobachtet (µg/L)	Wiederfindung (%)
170,0	177,7	178,3	100,3
34,0	41,7	41,9	100,5
17,0	24,7	24,7	100,0
3,4	11,1	10,9	98,2
1,7	9,4	9,0	95,7

Verdünnungskurve

Verdünnung einer Serumprobe mit NSE IRMA-Diluent.



Sensitivität

Der minimale messbare NSE-Wert (B_0 -Wert + 3 SD) beträgt 0,5 µg/L.

Messbereich

Der Messbereich beträgt bis zu 200 µg/L. Werte über 200 µg/L können nach Verdünnung der Probe mit NSE IRMA-Diluent und Wiederholung des Tests gemessen werden.

B_0/T

Der B_0 -Wert sollte weniger als 1 % des T-Werts betragen.

Indicaciones

Prolifigen® NSE IRMA es un ensayo *in vitro* para la determinación cuantitativa de enolasa específica de la neurona (NSE) en suero humano para el tratamiento de pacientes a los que se ha diagnosticado o en los que se sospecha la presencia de neuroblastoma y carcinoma de pulmón de célula pequeña.

Principio de procedimiento

El Prolifigen® NSE IRMA es un ensayo inmunoradiométrico de dos variaciones sitio específicas (sandwich) monoclonal de incubación sencilla. La muestra se incuba con un glóbulo de plástico recubierto con anticuerpo para NSE y un anticuerpo contra NSE etiquetado con ¹²⁵I. Tras lavar el anticuerpo radioactivo que no ha reaccionado del glóbulo, se mide la radioactividad ligada a éste mediante un contador gamma.

Advertencias y precauciones para el usuario

1. Generales

- Este producto está indicado únicamente para diagnóstico *in vitro*.
- El equipo no debe utilizarse después de la fecha de caducidad impresa en el paquete.
- No mezcle reactivos de diferentes lotes maestros.
- La precisión de los resultados del ensayo está directamente relacionada con el cuidado prestado en la dosificación, la mezcla en vórtex, la aspiración y el seguimiento riguroso de los requisitos metodológicos y de temperatura.
- La azida sódica utilizada como conservante en este producto puede ocasionar irritación, por lo que debe evitarse el contacto con la piel y las mucosas.
- Evite la contaminación microbiana de los reactivos.
- Observe las precauciones normales para el manejo de reactivos de laboratorio.
- La eliminación de los residuos debe realizarse de acuerdo con la normativa local.
- Los componentes del equipo, así como el suero de los pacientes deben considerarse como potencialmente infecciosos y deben tratarse con las correspondientes precauciones.
- Existen hojas de datos de seguridad disponibles.

2. Material radioactivo

Reactivos con contenido de yodo-125

Este equipo contiene material radiactivo que no supera de 5,1 µCi (188 kBq) de yodo-125. Para almacenar, manejar y desechar este material, deben adoptarse las precauciones necesarias y prácticas de laboratorio correctas.

Para facultativos o instituciones que reciben radioisótopos con licencia genérica:

Este material radiactivo sólo deben recibirlo, adquirirlo, poseerlo y utilizarlo médicos, veterinarios que practiquen la medicina veterinaria, laboratorios clínicos u hospitales, y sólo para pruebas *in vitro* clínicas o de laboratorio que no conlleven la administración interna o externa del material ni su radiación a seres humanos ni animales. Su recepción, adquisición, posesión, uso y transferencia se rigen por la normativa y la licencia genérica de la Comisión Reguladora Nuclear del estado en el que la Comisión haya llegado a un acuerdo para el ejercicio de su autoridad reguladora.

1. El almacenamiento del material radiactivo debe limitarse a un área destinada específicamente a tal efecto.
2. El acceso a materiales radiactivos debe estar limitado a personal autorizado únicamente.
3. No recoja material radiactivo con la pipeta usando la boca.
4. No coma ni beba dentro de las áreas destinadas a trabajos radiactivos.
5. Las áreas donde puedan producirse derrames deben enjuagarse y después lavarse con un detergente alcalino o una solución decontaminante radiológica. Todo recipiente de vidrio utilizado debe enjuagarse completamente con agua antes de lavarse con otros recipientes de laboratorio.

Para facultativos o instituciones que reciben radioisótopos con licencia específica:

La recepción, uso, transferencia y eliminación de los materiales radiactivos se rigen por la normativa y las condiciones de la licencia en cuestión.

ADVERTENCIA: Este producto contiene una sustancia química conocida por el Estado de California como causante de cáncer.

ATENCIÓN: La radiactividad impresa en el interior del paquete puede diferir ligeramente de la impresa en la etiqueta de la caja y en la del vial del trazador. La etiqueta de la caja y la del trazador indican la cantidad real de radiactividad en la fecha de la calibración, mientras que el impreso del interior del paquete indica la radiactividad teórica del equipo.

Componentes del equipo

Con cada equipo para 50 tubos de ensayo se suministran los reactivos siguientes.

- 1. Glóbulos recubiertos de anticuerpo Prolifigen® NSE IRMA**
1 botella que contiene >50 glóbulos secos con anticuerpo monoclonal anti-NSE.
- 2. Trazador Prolifigen® NSE IRMA**
1 vial con 11 mL de anticuerpo monoclonal anti-NSE etiquetado con ¹²⁵I. Radioactividad inferior a 188 kBq (5,1 µCi). En color rojo para facilitar la identificación.
- 3. Calibradores Prolifigen® NSE IRMA**
6 viales de 0,5 mL que contienen material NSE liofilizado; concentración de 0, 2, 6, 20, 60 y 200 µg/L respectivamente.
- 4. Disolvente Prolifigen® NSE IRMA**
1 vial de 2,5 mL que contiene tampón TRIS con albúmina de suero bovino (también utilizada como estándar cero).
- 5. Control Prolifigen® NSE IRMA, 1 y 2**
2 viales de 0,5 mL que contienen NSE en tampón, liofilizado.

Nota: Los reactivos 2, 3, 4 y 5 mencionados contienen azida sódica al <0,1 % como conservante.

Cada equipo de Prolifigen® NSE IRMA es suficiente para 17 muestras, controles y una curva de calibrador por duplicado. Si se precisa un mayor número de tubos, utilice reactivos combinados y mezclados únicamente procedentes de equipos con el mismo número de equipo. Mezcle con suavidad para evitar que haga espuma.

El equipo Prolifigen® NSE IRMA debe mantenerse a 2-8°C antes de utilizarlo.

Material necesario pero no suministrado

- Tubos de ensayo desechables de poliestireno con la parte de debajo redondeada (12 x 70-75 mm).
- Gradilla de tubos de ensayo.
- Micropipeta (25 µL) y microdispensadores (200 µL, 500 µL, 2,5 mL).
- Agua purificada de buena calidad.
- Mezclador vórtex.
- Sistema de lavado de glóbulos o dispensador de repetición de 2 mL para agregar fluido de lavado y un dispositivo de aspiración de vacío.
- Juego de contador gamma para ¹²⁵I. La eficacia del contador debe ser del >40%.
- Fórceps de plástico o dispensador de glóbulos para agregar glóbulos a los tubos.
- Herramientas para el manejo y la eliminación de material radioactivo, incluidos guantes protectores y otros dispositivos de protección personal.
- PC con un programa de evaluación de curvas tipo IRMA o una calculadora con papel gráfico tipo lin-log.

Trazabilidad de calibradores y controles

Los calibradores y controles del equipo consisten en enolasa específica de la neurona (NSE). Dicha NSE procede de material purificado y bien caracterizado. Los calibradores y controles se calibran frente a material NSE de referencia propio.

- El suero solo puede utilizarse para la determinación cuantitativa de NSE. No es recomendable utilizar plasma ya que los trombocitos pueden liberar NSE.
- Las muestras de sangre deben extraerse antes de aplicar ningún tratamiento, ni inicial ni de repetición.
- Las muestras deben obtenerse con procedimientos estándar. *Si la sangre se guarda por periodos prolongados, las células de sangre pueden liberar la NSE.*
- Si el ensayo se va a realizar en un periodo de 72 horas, almacene la muestra a 2-8°C. Si el ensayo no se va a realizar en las primeras 72 horas, congele la muestra por debajo de -18°C.
- No utilice muestras visiblemente hemolíticas (la absorbencia a 500 nm de la muestra no debe exceder 0,3), contaminadas ni excesivamente lipémicas.
- Las muestras que contienen >200 µg/L pueden diluirse con disolvente NSE IRMA para alcanzar valores exactos. Las muestras diluidas deben mezclarse a fondo con suavidad antes del ensayo y el factor de disolución debe tenerse en cuenta en el cálculo final.
- Los sueros congelados deben mezclarse a fondo con suavidad tras la descongelación.

Preparación de los reactivos antes de su utilización

Agregue 500 µL de agua purificada a los viales de los calibradores y controladores de NSE IRMA. Mezcle con suavidad, deje reposar durante 15 minutos a temperatura ambiente (18-30°C) y mezcle con suavidad justo antes de utilizarlos.

Deje que los componentes del equipo alcancen la temperatura ambiente antes de utilizarlos. Mezcle bien cada vial antes de utilizarlo.

Almacenamiento de los reactivos tras su uso

Si no se utiliza todo el equipo de una vez, el trazador NSE IRMA y los glóbulos recubiertos con anticuerpo NSE IRMA pueden guardarse a 2-8°C hasta la fecha de caducidad del equipo. Los calibradores NSE IRMA y los controles NSE IRMA deben utilizarse en un plazo de 72 horas si se guardan a 2-8°C; de lo contrario, deben congelarse por debajo de -18°C. Debe evitarse congelar y descongelar los productos reiteradamente. Debe evitarse la contaminación bacteriana de los reactivos almacenados.

Procedimiento del ensayo

Realice cada determinación por duplicado.

1. Agregue 25 µL de calibrador NSE IRMA, suero del paciente o control NSE IRMA a los tubos debidamente marcados.
2. Agregue 200 µL de trazador NSE IRMA a cada tubo (la solución tiene color rojizo). Para estimar las cuentas totales (T) agregue 200 µL de trazador a un tubo. Cuento la radioactividad antes de continuar con el proceso.
3. Agregue un glóbulo de plástico a cada tubo mediante los fórceps de plástico o un dispensador de glóbulos.
4. Incube los tubos durante 3±0,5 horas a temperatura ambiente (18-30°C).
5. Lave cada glóbulo 3 veces con 2 mL de agua purificada cada vez.
6. Cuento la radioactividad en un contador gamma.

Recogida, preparación y almacenamiento de la muestra

- El suero solo puede utilizarse para la determinación cuantitativa de NSE. No es recomendable utilizar plasma ya que los trombocitos pueden liberar NSE.
- Las muestras de sangre deben extraerse antes de aplicar ningún tratamiento, ni inicial ni de repetición.
- La sangre debe extraerse por punción venosa, dejarse coagular durante 20-30 minutos a temperatura ambiente y centrifugarse a 800-1000 RPM durante 10 minutos. *Si la sangre se guarda por periodos prolongados, las células de sangre pueden liberar la NSE.*
- Si el ensayo se va a realizar en un periodo de 72 horas, almacene la muestra a 2-8°C. Si el ensayo no se va a realizar en las primeras 72 horas, congele la muestra por debajo de -18°C.
- No utilice muestras visiblemente hemolíticas (la absorbencia a 500 nm de la muestra no debe exceder 0,3), contaminadas ni excesivamente lipémicas.
- Las muestras que contienen >200 µg/L pueden diluirse con disolvente NSE IRMA para alcanzar valores exactos. Las muestras diluidas deben mezclarse a fondo con suavidad antes del ensayo y el factor de disolución debe tenerse en cuenta en el cálculo final.
- Los sueros congelados deben mezclarse a fondo con suavidad tras la descongelación.

Preparación de los reactivos antes de su utilización

Agregue 500 µL de agua purificada a los viales de los calibradores y controladores de NSE IRMA. Mezcle con suavidad, deje reposar durante 15 minutos a temperatura ambiente (18-30°C) y mezcle con suavidad justo antes de utilizarlos.

Deje que los componentes del equipo alcancen la temperatura ambiente antes de utilizarlos. Mezcle bien cada vial antes de utilizarlo.

Almacenamiento de los reactivos tras su uso

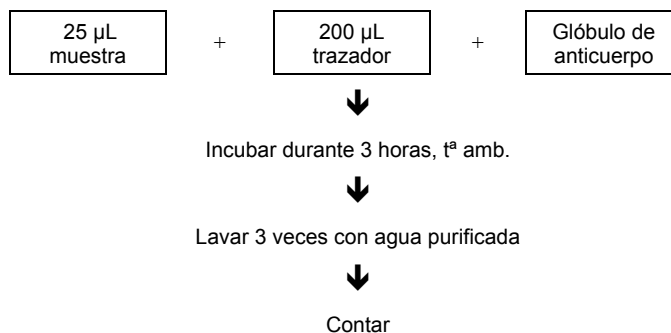
Si no se utiliza todo el equipo de una vez, el trazador NSE IRMA y los glóbulos recubiertos con anticuerpo NSE IRMA pueden guardarse a 2-8°C hasta la fecha de caducidad del equipo. Los calibradores NSE IRMA y los controles NSE IRMA deben utilizarse en un plazo de 72 horas si se guardan a 2-8°C; de lo contrario, deben congelarse por debajo de -18°C. Debe evitarse congelar y descongelar los productos reiteradamente. Debe evitarse la contaminación bacteriana de los reactivos almacenados.

Procedimiento del ensayo

Realice cada determinación por duplicado.

1. Agregue 25 µL de calibrador NSE IRMA, suero del paciente o control NSE IRMA a los tubos debidamente marcados.
2. Agregue 200 µL de trazador NSE IRMA a cada tubo (la solución tiene color rojizo). Para estimar las cuentas totales (T) agregue 200 µL de trazador a un tubo. Cuente la radioactividad antes de continuar con el proceso.
3. Agregue un glóbulo de plástico a cada tubo mediante los fórceps de plástico o un dispensador de glóbulos.
4. Incube los tubos durante 3±0,5 horas a temperatura ambiente (18-30°C).
5. Lave cada glóbulo 3 veces con 2 mL de agua purificada cada vez.
6. Cuente la radioactividad en un contador gamma.

Diagrama de flujo del método



Resultados del proceso

Utilice un ordenador con un programa para el manejo de datos tipo IRMA con el fin de evaluar los niveles de NSE en referencia al suero y el suero del paciente. De forma alternativa, las cuentas o la actividad relacionada (% B/T) pueden trazarse de forma manual frente a la concentración de analizado. Para este fin, es recomendable utilizar papel de diagramas tipo lin-log.

Control de calidad

Es recomendable que el laboratorio disponga de su propio juego de calibradores de control de calidad, además de los controles NSE IRMA 1 y 2 provistos en el equipo.

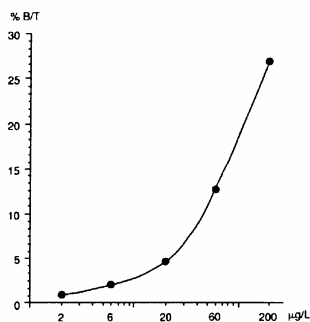
Ejemplo de los resultados

Esto es solo un **ejemplo** y no debe utilizarse para los cálculos.

Muestra	CPM	% B/T	NSE µg/L
Total (T)	132 601	–	–
B ₀	720	0,5	–
Calibrador 2 µg/L	1 369	1,0	2,0
Calibrador 6 µg/L	2 655	2,0	6,0
Calibrador 20 µg/L	6 043	4,6	20,0
Calibrador 60 µg/L	16 589	12,5	60,0
Calibrador 200 µg/L	35 488	26,8	200,0
Muestra de paciente 1	3 377	2,6	9,5
Muestra de paciente 2	6 195	4,7	20,5
Muestra de paciente 3	13 930	10,5	48,6

Ejemplo de curva de calibrador

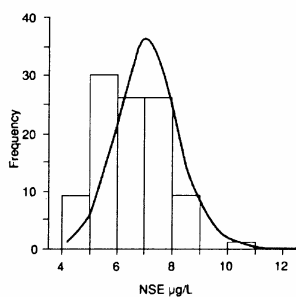
Esto es solo un ejemplo y no debe utilizarse en los cálculos.



Valores esperados y limitaciones del procedimiento

En un estudio de 100 individuos aparentemente sanos, se descubrió que el 95 % tenía valores de NSE en suero inferiores a 12,5 µg/L. La distribución se muestra en la figura adjunta.

Distribución de NSE en sujetos normales



Características de la prueba

Precisión

Precisión en 10 determinaciones utilizando 5 lotes diferentes de Prolifigen® NSE IRMA.

Muestra	Media µg/L	Coefficiente de variación intraensayo	% Total
1	7,8	8,2	10,6
2	14,5	9,8	11,6
3	58,7	7,5	11,2
4	112,3	8,4	14,2

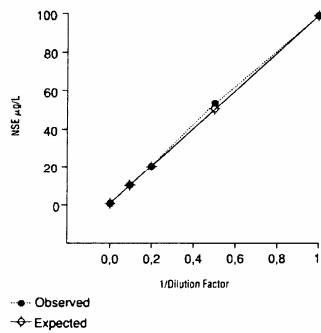
Recuperación

Se agregaron diferentes cantidades de NSE a una muestra de suero que contenía 7,7 µg/L de NSE y se determinó la concentración:

NSE añadido µg/L	Esperado µg/L	Observado µg/L	Recuperación %
170,0	177,7	178,3	100,3
34,0	41,7	41,9	100,5
17,0	24,7	24,7	100,0
3,4	11,1	10,9	98,2
1,7	9,4	9,0	95,7

Curva de disolución

Disolución de una muestra de suero con disolvente NSE IRMA.



Sensibilidad

Valor de NSE mínimo que puede medirse (valor $B_0 + 3 SD$) 0,5 µg/L.

Rango de medición

El rango de medición alcanza hasta 200 µg/L. Los valores por encima de 200 µg/L pueden medirse tras diluir la muestra con disolvente NSE IRMA y repetir el ensayo.

B_0/T

B_0 debe ser inferior al 1% de T.

Uso previsto

Prolifigen® NSE IRMA è un'analisi *in vitro* per la determinazione quantitativa di enolasi neurone specifica (NSE) nel siero umano quale ausilio nel trattamento di pazienti affetti da neuroblastoma sospetto o diagnosticato e carcinoma polmonare a piccole cellule.

Principio della procedura

Prolifigen® NSE IRMA è un'analisi immunoradiometrica a due siti monoclonale a singola incubazione (principio sandwich). Il campione viene incubato con una perla in plastica rivestita con anticorpo a NSE e un anticorpo a NSE etichettato con iodio-¹²⁵. Dopo il lavaggio dell'anticorpo radioattivo libero dalla perla, la radioattività che rimane sulla stessa viene misurata con un contatore a raggi gamma.

Avvertenze e precauzioni per gli utilizzatori

1. Avvertenze generali
 - Questo prodotto è destinato esclusivamente all'uso diagnostico *in vitro*.
 - Il kit non deve essere usato dopo la data di scadenza stampata sulla confezione.
 - Non mescolare reagenti di lotti diversi.
 - L'attendibilità dei risultati di questa analisi è direttamente correlata al grado di attenzione esercitata durante le operazioni con pipetta, Vortex, aspirazione e all'osservanza ai requisiti metodologici e alla temperatura.
 - La sodio azide utilizzata come conservante in questo prodotto può provocare irritazione: evitare il contatto con la pelle e le mucose.
 - Evitare contaminazioni microbiche dei reagenti.
 - Osservare le normali precauzioni stabilite per la manipolazione dei reagenti di laboratorio.
 - Lo smaltimento dei materiali di rifiuto dovrà essere conforme alle normative locali.
 - I componenti del kit, come pure i sieri dei pazienti, dovranno essere considerati come potenzialmente infettivi e dovranno essere manipolati con le dovute precauzioni.
 - A richiesta sono disponibili schede dati sulla sicurezza dei materiali.
2. Materiale radioattivo

Reagenti contenenti iodio-125

Questo kit contiene materiale radioattivo che non supera 5,1 µCi (188 kBq) di iodio-125. Adottare precauzioni adeguate e le buone pratiche di laboratorio per la conservazione, la manipolazione e lo smaltimento di questo materiale.

Per i professionisti o gli istituti che utilizzano radioisotopi con una licenza generale:

Questo materiale radioattivo può essere consegnato, acquisito, conservato e usato unicamente da personale medico, veterinari abilitati alla pratica di medicina veterinaria, laboratori clinici o ospedali e unicamente per test *in vitro* clinici o di laboratorio che non prevedano la somministrazione interna o esterna del materiale, o di radiazioni da esso derivanti, su persone o animali. L'acquisto, il possesso, la conservazione, l'uso e il trasferimento sono soggetti alle norme e alla licenza generale della Nuclear Regulatory Commission statunitense dello stato con cui la Commissione ha stipulato un accordo per l'esercizio dell'autorità normativa.

1. La conservazione del materiale radioattivo deve essere limitata ad un'area specificatamente designata.
2. L'accesso ai materiali radioattivi deve essere limitato esclusivamente al personale autorizzato.
3. Non usare la bocca per versare con la pipetta materiale radioattivo.
4. Non mangiare o bere nelle aree di lavoro designate per materiale radioattivo.

5. Le zone dove possono verificarsi perdite devono essere pulite, quindi lavate con detergente alcalino o soluzione per la decontaminazione radiologica. Tutti gli oggetti in vetro usati devono essere accuratamente risciacquati con acqua prima di lavarli con altri oggetti in vetro del laboratorio.

Per i professionisti o gli istituti che utilizzano radioisotopi con una licenza specifica:

L'acquisto, l'uso, il trasferimento e lo smaltimento di materiali radioattivi sono soggetti alle norme e alle condizioni della licenza specifica.

AVVERTENZA: Questo prodotto contiene un prodotto chimico noto nello Stato della California per provocare cancro.

ATTENZIONE: La radioattività stampata sulle istruzioni allegate alla confezione può essere leggermente diversa dalla radioattività stampata sull'etichetta della scatola e sull'etichetta della fiala di traccianti. L'etichetta sulla scatola e sulla fiala di traccianti indicano la quantità effettiva di radioattività alla data di calibrazione, mentre il materiale informativo della confezione indica la radioattività teorica del kit.

Componenti del kit

In ogni kit vengono forniti i seguenti reagenti necessari per 50 provette.

1. **Perle Prolifigen® NSE IRMA rivestite con anticorpo**
1 flacone contenente >50 perle secche rivestite con anticorpo anti-NSE monoclonale.
2. **Tracciante Prolifigen® NSE IRMA**
1 fiala da 11 mL contenente anticorpo anti-NSE monoclonale etichettato con iodio-¹²⁵. Radioattività totale inferiore a 188 kBq (5,1 µCi). Di colore rosso per facilitare l'identificazione.
3. **Calibratori Prolifigen® NSE IRMA**
6 fiale da 0,5 mL contenenti materiale NSE liofilizzato, rispettivamente in concentrazioni di 0, 2, 6, 20, 60 e 200 µg/L.
4. **Diluente Prolifigen® NSE IRMA**
1 fiala da 2,5 mL contenente buffer TRIS con sieralbumina bovina (usata anche come standard zero).
5. **Controlli 1 e 2 Prolifigen® NSE IRMA**
2 fiale da 0,5 mL contenenti NSE in tampone, liofilizzato.

Nota: I reagenti 2, 3, 4 e 5 contengono <0,1 % sodio azide come conservante.

Ogni kit di Prolifigen® NSE IRMA è sufficiente per 17 campioni, controlli e una curva di calibrazione in duplicato. Qualora fosse necessario un numero maggiore di provette, usare reagenti combinati e misti di altri kit aventi lo stesso numero di lotto. Mescolare delicatamente per evitare la formazione di schiuma.

Il kit Prolifigen® NSE IRMA deve essere conservato alla temperatura di 2-8°C prima dell'uso.

Altri materiali necessari, non forniti in dotazione

- Provette in polistirene con base arrotondata (12x70-75 mm), monouso.
- Portaprovette.
- Micropipetta (25 µL) e microdosatori (200 µL, 500 µL, 2,5 mL).
- Acqua purificata di buona qualità.
- Mixer Vortex.
- Dispositivo per il lavaggio delle perle, o dosatore a ripetizione da 2 mL per l'aggiunta del liquido di lavaggio e un aspiratore a vuoto.
- Contatore a raggi gamma impostato per iodio-¹²⁵. L'efficienza del contatore dovrà essere >40%.
- Forcipe in plastica o dispenser per versare le perle nelle provette.
- Attrezzature per la manipolazione e lo smaltimento di materiale radioattivo, compresi guanti di protezione e altri strumenti di protezione personale.

- Computer dotato di programma adatto per la valutazione di curve di tipo IRMA o calcolatore e carta millimetrata di tipo lin-log.

Tracciabilità dei calibratori e dei controlli

I calibratori e i controlli del kit consistono di Enolasi Neurone Specifica (NSE). L'NSE deriva da materiale purificato e ben caratterizzato. I calibratori e i controlli sono calibrati in base a materiale NSE di riferimento interno.

Raccolta dei campioni, preparazione e conservazione

- Usare solamente siero per la determinazione quantitativa di NSE. Il plasma non è consigliato in quanto NSE può essere rilasciato dai trombociti.
- I campioni di sangue devono essere prelevati prima della somministrazione di qualsiasi trattamento, sia esso iniziale o una ripetizione.
- Raccogliere i campioni mediante procedure standard. *Una conservazione prolungata del sangue può provocare il rilascio di NSE dalle cellule ematiche.*
- Se i campioni verranno analizzati entro 72 ore, conservarli a 2-8°C. Se i campioni non verranno analizzati entro 72 ore, congelarli a una temperatura inferiore a -18°C.
- Non usare campioni che sono visibilmente emolitici (l'assorbanza a 500 nm del campione non deve eccedere 0,3), contaminati o fortemente lipemici.
- I campioni che dovessero contenere >200 µg/L possono essere diluiti con il diluente NSE IRMA per ottenere valori esatti. I campioni diluiti devono essere mescolati delicatamente, ma accuratamente, prima dell'analisi e si dovrà tenere conto del fattore di diluizione nel calcolo finale.
- I sieri congelati dovranno essere mescolati delicatamente, ma accuratamente, dopo lo scongelamento.

Preparazione dei reagenti prima dell'uso

In ogni fila di calibratore e controllo calibratore e controllo NSE IRMA, aggiungere 500 µL di acqua purificata. Mescolare delicatamente, lasciar riposare per 15 minuti a temperatura ambiente (18-30°C) e mescolare delicatamente poco prima dell'uso.

Lasciare che il contenuto del kit raggiunga la temperatura ambiente prima dell'uso. Mescolare bene ogni fiala prima dell'uso.

Conservazione dei reagenti dopo l'uso

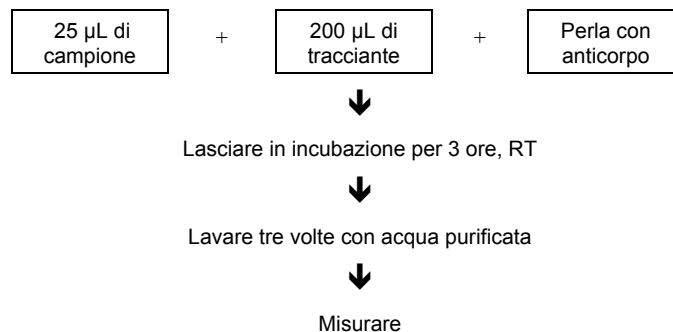
Se l'intero kit non viene utilizzato in una sola volta, il tracciante NSE IRMA e le perle NSE IRMA rivestite con anticorpo possono essere conservati a 2-8°C fino alla data di scadenza del kit. I calibratori e i controlli NSE IRMA devono essere usati entro 72 ore se conservati a 2-8°C, altrimenti congelarli a una temperatura inferiore a -18°C. Evitare operazioni di congelamento e scongelamento ripetute. Evitare la contaminazione batterica dei reagenti conservati.

Procedura di analisi

Eseguire ogni determinazione in duplicato.

1. Aggiungere 25 µL di calibratore NSE IRMA, siero di paziente o controllo NSE IRMA in ogni provetta adeguatamente contrassegnata.
2. Aggiungere 200 µL di tracciante NSE IRMA in ogni provetta (la soluzione ha un colore rosso). Per stimare i conteggi totali (T), aggiungere 200 µL di tracciante in una provetta. Misurare la radioattività senza eseguire ulteriori operazioni.
3. Aggiungere una perla in plastica in ogni provetta servendosi di un forcipe in plastica o di un dosatore.
4. Lasciare le provette in incubazione per $3 \pm 0,5$ ore a temperatura ambiente (18-30°C).
5. Lavare ogni perla tre volte con 2 mL di acqua purificata.
6. Misurare la radioattività in un contatore a raggi gamma.

Diagramma della metodica



Elaborazione dei risultati

Utilizzare un computer dotato di programma per la gestione dei dati di tipo IRMA per valutare i livelli di NSE nei sieri di riferimento e nei sieri del paziente. In alternativa, i conteggi o il legame (% B/T) possono essere tracciati a mano in rapporto alla concentrazione dell'analita. A tale scopo, si consiglia l'uso di carta millimetrata lin-log.

Controllo di qualità

E' buona norma che il laboratorio disponga di una serie propria di calibratori per il controllo della qualità, in aggiunta ai Controlli 1 e 2 NSE IRMA forniti con il kit.

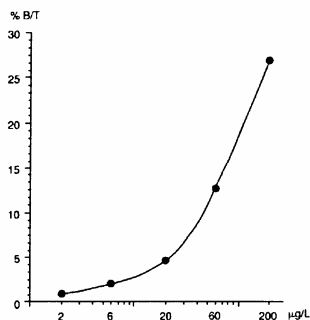
Esempio di risultati

Quanto segue è solamente un **esempio** e non deve essere usato per i calcoli.

Campione	CPM	% B/T	NSE µg/L
Totale (T)	132 601	–	–
B ₀	720	0,5	–
Calibratore 2 µg/L	1 369	1,0	2,0
Calibratore 6 µg/L	2 655	2,0	6,0
Calibratore 20 µg/L	6 043	4,6	20,0
Calibratore 60 µg/L	16 589	12,5	60,0
Calibratore 200 µg/L	35 488	26,8	200,0
Campione paziente 1	3 377	2,6	9,5
Campione paziente 2	6 195	4,7	20,5
Campione paziente 3	13 930	10,5	48,6

Esempio di curva di calibrazione

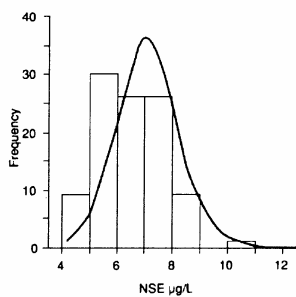
Quanto segue è solamente un **esempio** e non deve essere usato nei calcoli.



Valori previsti e limiti della procedura

In uno studio su 100 individui apparentemente sani, nel >95% sono stati rilevati valori di NSE nel siero inferiori a 12,5 µg/L. La distribuzione è indicata nella figura che segue.

Distribuzione di NSE in soggetti normali



Caratteristiche del test

Precisione

Precisione in 10 determinazioni con uso di 5 lotti diversi di Prolifigen® NSE IRMA.

Campione	Media µg/L	Coefficiente di variazione	
		durante l'analisi	% Totale
1	7,8	8,2	10,6
2	14,5	9,8	11,6
3	58,7	7,5	11,2
4	112,3	8,4	14,2

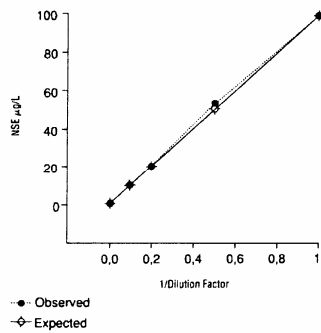
Recupero

Ad un campione di siero contenente 7,7 µg/L di NSE, sono state aggiunte quantità varianti di NSE quindi è stata determinata la concentrazione:

µg/L di NSE aggiunto	µg/L previsto	µg/L osservato	% di recupero
170,0	177,7	178,3	100,3
34,0	41,7	41,9	100,5
17,0	24,7	24,7	100,0
3,4	11,1	10,9	98,2
1,7	9,4	9,0	95,7

Curva di diluizione

Diluizione di un campione di siero con diluente NSE IRMA.



Sensibilità

Valore di NSE minimo misurabile (valore $B_0 + 3 SD$) 0,5 µg/L.

Range di misurazione

Il range di misurazione è fino a 200 µg/L. Valori superiori a 200 µg/L possono essere misurati mediante diluizione del campione con diluente NSE IRMA e ripetizione dell'analisi.

B_0/T

B_0 deve essere inferiore all'1% di T.

Beregnet anvendelse

Prolifigen® NSE IRMA er en *in vitro* analyse til kvantitativ bestemmelse af neuronspecifik enolase (NSE) i humant serum, og anvendes til overvågning af patienter med mistænkt eller diagnosticeret neuroblastom og småcellet lungecarcinom.

Analysemetode

Prolifigen® NSE IRMA er en monoklonal, to-punkts, enkelt inkubations, immunoradiometrisk (sandwich) analyse. Prøverne inkuberes med en plastickegle, der er beklædt med antistof mod NSE, og der tilsættes et ¹²⁵I-mærket antistof mod NSE. Efter at det ubundne, radioaktive antistof er skyllet af kuglen, måles det bundne radioaktive antistof med en gammamatæller.

Advarsler og forholdsregler

1. Generelt

- Dette produkt er kun beregnet til *in vitro* diagnostik.
- Sættet må ikke anvendes efter udløbsdatoen, der er trykt på emballagen.
- Bland ikke reagenser fra forskellige varepartier.
- Nøjagtigheden af denne analyses resultater er afhængig af den omhu, der udvises under pipettering, centrifugering, sugning og overholdelse af metode og temperaturkrav.
- Natriumazid bruges som konserveringsmiddel og kan forårsage irritation, så kontakt med hud og slimhinder skal undgås:
- Undgå mikrobiel forurening af reagenserne.
- Overhold de almindelige forholdsregler for håndtering af laboratoriereagenser.
- Alt spildmateriale skal bortskaffes i henhold til lokale bestemmelser.
- Både sættets dele og patientsera skal behandles som potentielt infektiøst materiale, og passende forholdsregler skal overholdes under håndteringen af dem.
- Der kan bestilles sikkerhedsdatablade for materialerne.

2. Radioaktivt materiale

Reagenser indeholdende radioaktivt jod-125

Dette kit indeholder radioaktivt materiale, der ikke overskrider 5,1 µCi (188 kBq) jod-125. Tag passende forholdsregler og overhold god laboratoriepraksis ved opbevaring, håndtering og bortskaffelse af dette materiale.

Til praktiserende læger eller institutioner, der modtager radioisotoper i h.t. en generel tilladelse:

Dette radioaktive materiale må kun modtages, erhverves, besiddes og anvendes af læger, praktiserende dyrlæger, kliniske laboratorier eller hospitaler, og kun til *in vitro*- eller laborietests, der ikke omfatter indgift eller påføring af materialet eller af stråling fra dette, til mennesker eller dyr. Modtagelse, erhvervelse, besiddelse, brug og videregivelse af dette materiale skal overholde bestemmelserne og den generelle tilladelse fra U.S. Nuclear Regulatory Commission, eller fra den stat, med hvilken kommissionen har indgået aftale om håndhævelsen af lovens krav.

1. Radioaktivt materiale må kun opbevares på et til formålet udpeget areal.
2. Adgang til radioaktivt materiale skal begrænses til særligt bemyndiget personale.
3. Afpipetter aldrig radioaktivt materiale med munden.
4. Drik eller spis aldrig på arbejdsarealer beregnet til arbejde med radioaktivt materiale.
5. Områder, hvor der kan forekomme spild, skal aftørres og derefter vaskes med et basisk rengøringsmiddel eller et særligt middel til dekontaminering af radiologisk materiale. Hvis der anvendes glasbeholdere, skal de skylles grundigt med vand, inden de vaskes op sammen med andet laboratorieudstyr af glas.

Til praktiserende læger eller institutioner, der modtager radioisotoper i h.t. en generel tilladelse:

For modtagelse, brug, videregivelse og bortskaffelse af radioaktivt materiale gælder bestemmelserne og vilkårene angivet i den pågældende tilladelse.

ADVARSEL: Dette produkt indeholder et stof, som staten Californien har fastslået kan forårsage kræft.

BEMÆRK: Indlægssedlens opgivelser vedr. radioaktivitet kan afvige en smule fra den radioaktivitet, der er trykt på æskens mærkat og på tracer-glassets mærkat. Mærkaten på æsken og etiketten på tracer-glasset angiver den konstaterede radioaktivitet på kalibreringstidspunktet, mens indlægssedlen angiver kittets teoretiske radioaktivitet.

Sættets indhold

Hvert prøvesæt til 50 reagensglas indeholder følgende reagenser:

1. **Prolifigen® NSE IRMA antistofbeklædte kugler**
1 flaske indeholder >50 tørre kugler der er beklædt med anti-NSE-antistof.
2. **Prolifigen® NSE IRMA tracer**
1 x 11 mL hætteglas indeholder ¹²⁵I-mærket, monoklonalt anti-NSE-antistof. Total radioaktivitet mindre end 188 kBq (5,1 µCi). Farvet rødt så det er lettere at kende.
3. **Prolifigen® NSE IRMA kalibratorer**
6 x 0,5 mL hætteglas indeholder frysetørret NSE materiale; i koncentrationer på henholdsvis 0, 2, 6, 20, 60 og 200 µg/L.
4. **Prolifigen® NSE IRMA fortyndingsmiddel**
1 x 2,5 mL hætteglas indeholder TRIS-buffer med bovint serumalbum (bruges også som nulstandard).
5. **Prolifigen® NSE IRMA kontrolmateriale 1 & 2**
2 x 0,5 mL hætteglas indeholdende NSE i buffer, frysetørret.

Bemærk: Ovenstående reagens 2, 3, 4 og 5 indeholder <0,1 % natriumazid som konserveringsmiddel.

Hvert Prolifigen® NSE IRMA sæt er nok til analyse af 17 prøver, kontroller og en gentagen kalibratorkurve. Hvis der er behov for et større antal prøver, må reagenser fra forskellige sæt kun blandes sammen, hvis sætterne har samme varepartinummer. Bland forsigtigt for an undgå skum.

Prolifigen® NSE IRMA sættet skal opbevares ved 2 – 8°C, indtil det skal bruges.

Nødvendigt materiale, der ikke medfølger:

- Reagensglas i polystyren med afrundet bund (12 x 70–75 mm), til engangsbrug.
- Stativ til reagensglas.
- Mikropipette (25 µL) og mikrodispensere (200 µL, 500 µL, 2,5 mL).
- Renset vand af god kvalitet.
- Hvirvelmikser.
- Kuglevaskesystem eller 2 mL åben dispenser til tilsætning af skyllevæske samt et vakuumsug.
- Gammataællersæt til ¹²⁵I-jod. Tællerens effektivitet skal være >40%.
- Plasticpincet eller kugledispenser til tilsætning af kugler til reagensglassene.
- Faciliteter til håndtering og bortskaffelse af radioaktivt materiale her i blandt beskyttelseshandsker og andet personligt sikkerhedsudstyr.
- Computer med passende program til vurdering af kurver af typen IRMA eller regnemaskine og millimeterpapir af typen lin-log.

Påviseligheden af kalibratorer og kontrolmateriale

Sættets kalibratorer og kontrolmateriale består af neuronspecifik enolase (NSE). NSE'et stammer fra oprenset materiale med velkendte egenskaber. Kalibratorer og kontrolmateriale skal kalibreres mod internt NSE-referencemateriale.

Indsamling, forberedelse og opbevaring af prøver

- Det anbefales at anvende serum til kvantitativ bestemmelse af NSE. Plasma kan ikke anbefales, da trombocytter kan afgive NSE.
- Blodprøver skal tages, før der gives behandling, hvad enten behandlingen gives første gang eller gentages.
- Brug standardprocedurer ved prøveudtagning. *Længerevarende opbevaring af blodprøver kan bevirke, at der afgives NSE fra blodcellerne.*
- Hvis prøven skal analyseres indenfor 72 timer, skal den opbevares ved 2 – 8°C. Hvis prøven ikke skal analyseres indenfor 72 timer, skal den opbevares ved –18°C.
- Brug ikke prøver med synlig hæmolyse (prøvens absorbans ved 500 nm må ikke overstige 0,3), forurenede prøver eller prøver med udpræget lipæmi.
- Prøver, der indeholder over >200 µg/L, kan fortyndes med NSE IRMA fortyndingsmiddel for at opnå en nøjagtig værdi. De fortyndede prøver skal rystes forsigtigt men grundigt, før de analyseres, og fortyndingsfaktoren skal tages i betragtning ved den endelige beregning.
- Frossen sera skal blandes forsigtig men grundigt efter optøningen.

Klargøring af reagenser

Tilsæt 500 µL rensed vand til hvert hætteglas med NSE IRMA kalibratorer og kontrolmateriale. Bland forsigtigt og lad glassene stå i 15 minutter ved stuetemperatur (18–30°C). Bland herefter igen forsigtigt før brug.

Lad sættens indhold få stuetemperatur inden brug. Bland hvert hætteglas godt før brug.

Opbevaring af reagenser efter brug

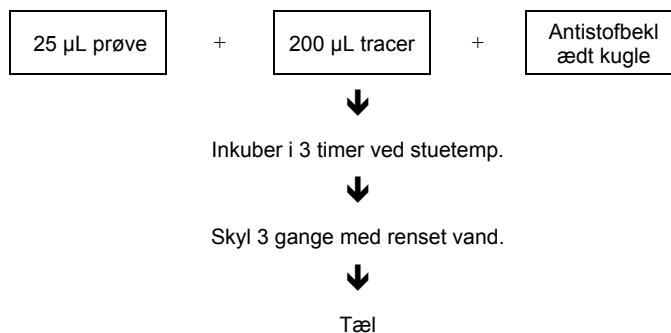
Hvis hele sættet ikke anvendes med det samme kan NSE IRMA tracer og NSE IRMA antistofbeklædte kugler opbevares ved 2–8°C indtil sættets udløbsdato. NSE IRMA kalibratorer og NSE IRMA kontrolmateriale skal anvendes indenfor 72 timer, hvis de opbevares ved 2–8°C, eller skal de fryses ned til under –18°C. Undgå gentagen frysning og optøning. Undgå bakteriel forurening af de opbevarede reagenser.

Analysemetode

Hver bestemmelse skal udføres to gange.

1. Tilsæt 25 µL NSE IRMA kalibrator, patientserum eller NSE IRMA kontrolmateriale til hvert korrekt afmærket reagensglas.
2. Tilsæt 200 µL NSE IRMA tracer til hvert reagensglas. (Opløsningen bliver rød.) For at beregne den totale tælling (T) kommes der 200 µL tracer i et reagensglas. Tæl radioaktiviteten uden at foretage yderligere.
3. Tilsæt en plastickegle til hvert reagensglas ved hjælp af plasticpincetten eller kugledispenseren.
4. Inkuber reagensglassene i 3±0,5 timer ved stuetemperatur (18–30°C).
5. Vask hver kugle 3 gang, hver gang med 2 mL rensed vand.
6. Tæl radioaktiviteten i en gammamatæller.

Flowdiagram for metoden



Behandling af resultater

Brug en computer med et program, der kan behandle data af typen IRMA, til at vurdere NSE niveauerne i referencesera og patientsera. Tællingerne eller den bundne aktivitet (% B/T) kan også plottes ind manuelt mod analytkoncentrationen. Det anbefales at anvende millimeterpapir af typen lin-log til dette formål.

Kvalitetskontrol

Det anbefales, at hvert laboratorium bruger deres egne sæt af kalibratorer til kvalitetskontrol ud over de NSE IRMA kontrol 1 og 2, der leveres med hvert sæt.

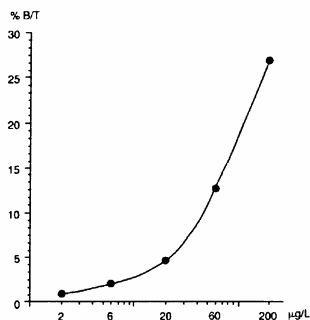
Eksempler på resultater

Dette er kun et eksempel og må ikke bruges i beregningerne.

Prøve	CPM	% B/T	NSE µg/L
Total (T)	132 601	–	–
B ₀	720	0,5	–
Kalibrator 2 µg/L	1 369	1,0	2,0
Kalibrator 6 µg/L	2 655	2,0	6,0
Kalibrator 20 µg/L	6 043	4,6	20,0
Kalibrator 60 µg/L	16 589	12,5	60,0
Kalibrator 200 µg/L	35 488	26,8	200,0
Patientprøve 1	3 377	2,6	9,5
Patientprøve 2	6 195	4,7	20,5
Patientprøve 3	13 930	10,5	48,6

Eksempel på kalibratorkurve

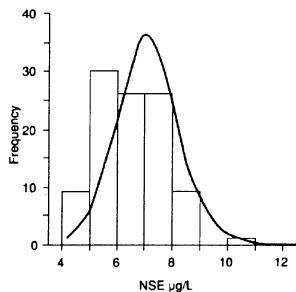
Dette er kun et eksempel og må ikke bruges i beregningerne.



Forventede værdier og procedurens begrænsninger

I en undersøgelse af 100 tilsyneladende raske individer, fandtes det at >95 % havde serum NSE værdier under 12,5 µg/L. Denne fordeling vises i nedenstående figur.

Fordelingen af NSE hos normale individer



Testens karakteristika

Præcision

Nøjagtigheden i 10 bestemmelser med brug af Prolifigen® NSE IRMA fra 5 forskellige varepartier.

Prøve	Gennemsnit (U/l)	Variationskoefficienten	
		indenfor analysen	% Total
1	7,8	8,2	10,6
2	14,5	9,8	11,6
3	58,7	7,5	11,2
4	112,3	8,4	14,2

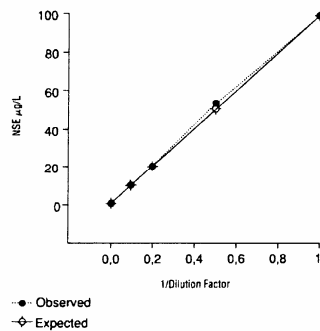
Genvinding

Til en serumprøve, der indeholdt 7,7 µg/L NSE, blev der tilsat forskellig mængder NSE, og koncentrationerne blev bestemt:

Tilsat NSE µg/L	Forventet µg/L	Fundet µg/L	Genvinding %
170,0	177,7	178,3	100,3
34,0	41,7	41,9	100,5
17,0	24,7	24,7	100,0
3,4	11,1	10,9	98,2
1,7	9,4	9,0	95,7

Fortyndingskurve

Fortynding af en serumprøve med NSE IRMA fortyndingsmiddel.



Sensitivitet

Mindste målelige NSE værdi (B_0 værdi + 3 SD) 0,5 µg/L.

Måleområde

Måleområdet er op til 200 µg/L. Værdier over 200 µg/L kan måles, hvis prøven fortyndes med NSE IRMA fortyndingsmiddel, og analysen gentages.

B_0/T

B_0 skal være mindre end 1% af T.

Avsedd användning

Prolifigen® NSE IRMA är en *in vitro* assay för kvantitativ bestämning av neuronspecifikt enolas (NSE) i humant serum och används för behandling av patienter med misstänkt eller diagnostiserat neuroblastom och småcellig lungcancer.

Principer för proceduren

Prolifigen® NSE IRMA är en monoklonal tvåställes enkel inkubations-immunradiometrisk (sandwich) assay. Provet inkuberas med en plastpärla belagd med antikropp för NSE och en antikropp mot NSE märkt med ¹²⁵I. Efter ej reagerad radioaktiv antikropp tvättats av från pärlan mäts radioaktiviteten bunden till pärlan med en gamma-räknare.

Varningar och försiktighetsåtgärder för användare

1. Allmänt
 - Denna produkt är endast för *in vitro* diagnostik.
 - Denna sats får inte användas efter det utgångsdatum som finns på förpackningen.
 - Reagens från skilda masterlot får ej blandas.
 - Noggrannheten på resultaten från denna assay är direkt beroende av noggrannheten vid pipettering, vortexblandning och aspiration samt att krav på metodologi och temperatur följs.
 - Natriumazid som är ett konserveringsmedel i denna produkt kan orsaka irritation: undvik kontakt med hud och slemhinnor.
 - Undvik mikrobiell förorening av reagenser.
 - Tillämpa normala försiktighetsåtgärder som krävs för hantering av alla laboratoriereagenser.
 - Kassering av allt avfall skall ske enligt gällande lokala bestämmelser.
 - Komponenterna i satsen samt patientserum ska anses vara potentiellt smittförande och ska hanteras med lämpliga försiktighetsåtgärder.
 - Materialdatablad kan erhållas på begäran.

2. Radioaktivt material

Reagens som innehåller jod-125

Satsen innehåller radioaktivt material som ej överstiger 5,1 µCi (188 kBq) jod-125. Adekvata försiktighetsåtgärder måste vidtas och god laboratoriepraxis följas vid förvaring, hantering och kassering av detta material.

För mottagningar och institutioner som tar emot radioisotoper under en allmän licens:

Detta radioaktiva material får endast tas emot, förvärvas, ägas och användas av läkare, veterinärer med praktik inom veterinärmedicin, kliniska laboratorier eller sjukhus, och får endast användas för kliniska tester *in vitro* eller laborietester *in vitro*, vilka ej innebär någon invärtes eller utvärtes administrering av materialet, eller av strålning från det, till människor eller djur. För mottagande, förvärv, innehav, användning och överlåtelse gäller de regler och den allmänna licens som utfärdats av den amerikanska Nuclear Regulatory Commission eller av den stat med vilken kommissionen har ingått ett avtal för utövande av regulatorisk myndighet.

1. Radioaktivt material får endast förvaras på en speciellt avsedd plats.
2. Endast auktoriserad personal får ha tillgång till radioaktivt material.
3. Pipettera aldrig radioaktivt material med munnen.
4. Undvik att äta eller dricka i lokaler där radioaktivt material används.
5. Ytor där spill kan förekomma skall torkas av och därefter rengöras med ett alkaliskt rengöringsmedel eller radiologisk dekontamineringslösning. Alla glasvaror som används måste sköljas noga med vatten innan de diskas tillsammans med andra glasvaror för laboratoriebruk.

För mottagningar och institutioner som tar emot radioisotoper under en specifik licens: När ni tar emot, använder, överlåter och kasserar radioaktivt material gäller reglerna och villkoren i er specifika licens.

WARNING! Produkten innehåller en kemikalie som enligt staten Kalifornien är känd för att orsaka cancer.

OBSERVERA! Den radioaktivitet som anges på bipacksedeln kan skilja sig något från den aktivitet som anges på etiketterna på kartongen och på flaskan med spårämnet. Etiketterna på kartongen och på flaskan med spårämnet anger den verkliga radioaktivitetsmängden vid kalibreringsdatum, medan bipacksedeln anger den teoretiska radioaktiviteten för satsen.

Satsens komponenter

Följande reagenser levereras med varje testsats för 50 assay-rör:

- 1. Prolifigen® NSE IRMA antikroppbelagda pärlor**
1 flaska med >50 torra pärlor belagda med monoklonal anti-NSE-antikropp.
- 2. Prolifigen® NSE IRMA spårämne**
1 x 11 mL flaska med ¹²⁵I-märkt monoklonal anti-NSE-antikropp. Total radioaktivitet mindre än 188 kBq (5,1 µCi). Rödfärgad för att underlätta identifikation.
- 3. Prolifigen® NSE IRMA kalibratorer**
6 x 0,5 mL flaskor med frystorkat NSE-material. Koncentration på 0, 2, 6, 20, 60 respektive 200 µg/L.
- 4. Prolifigen® NSE IRMA spådningsmedel**
1 x 2,5 mL flaska med TRIS-buffert med bovint serumalbumin (används även som en nollstandard).
- 5. Prolifigen® NSE IRMA kontroll, 1 och 2**
2 x 0,5 mL flaska med NSE i buffert, frystorkad.

Obs: Reagens 2, 3, 4 och 5 ovan innehåller <0,1 % natriumazid som konserveringsmedel.

Varje sats Prolifigen® NSE IRMA är tillräckligt för 17 prover, kontroller och en kalibratorkurva i duplikat. Om större antal rör krävs, använd pool med blandade reagens från satser som endast har samma lot-nummer. Blanda försiktigt för att undvika skumbildning.

Prolifigen® NSE IRMA satsen ska förvaras vid 2–8°C före användning.

Annat material som krävs, men ej tillhandahålls

- Polystyrenprovorrör med rund botten (12x70–75 mm), engångstyp.
- Provrörsställ.
- Mikropipett (25 µL) och mikrodispenser (200 µL, 500 µL, 2,5 mL).
- Renat vatten av god kvalitet.
- Vortex-blandare.
- Pärltvättsystem, eller 2 mL repeter-dispenser för tillsats av tvättvätska och en vakuumaspirationsenhet.
- Gamma-räknare inställd på ¹²⁵Iod. Räknarens verkningsgrad ska vara >40 %.
- Plastpincett eller lämpligt verktyg för att tillsätta pärlor i rör.
- Utrustning för hantering och avfallshantering av radioaktivt material, inklusive skyddshandskar och annan personlig skyddsutrustning.
- Dator med program för utvärdering av kurvor av IRMA-typ eller handräknare och diagrafpapper, av lin-log-typ

Spårbarhet för kalibratorer och kontroller

Kalibratorerna och kontrollerna för satsen består av neuronspecifikt enolas (NSE). Detta NSE kommer från renat och välkarakteriserat material. Kalibratorer och kontroller kalibreras mot företagsinternt referens-NSE-material.

Provtagning, provhantering och förvaring

- Endast serum kan användas för kvantitativ bestämning av NSE. Plasma rekommenderas ej, eftersom NSE kan frisättas från trombocyterna.
- Blodprover ska tas innan eventuell behandling ges, antingen vid första eller upprepade behandling.
- Provtagning ska göras enligt standardrutiner. *Längre tids förvaring av blod kan frisätta NSE från blodkroppar.*
- Om proven ska testas inom 72 timmar ska de förvaras vid 2-8°C. Om proven inte testas inom 72 timmar ska de frysas till under -18°C.
- Använd inte prover som är synbart hemolytiska (absorbans vid 500 nm för provet ska ej överstiga 0,3), förorenade eller kraftigt lipemiska.
- Prover för vilka det konstaterats att de innehåller >200 µg/L går det att späda med NSE IRMA spädningsmedel för att få exakta värden. Spädda prov måste blandas försiktigt, men ordentligt, före test och spädningsfaktorn ska tas med i slutberäkningen.
- Fruset serum ska blandas försiktigt, men ordentligt, efter upptining.

Förbereda reagenser före användning

Till var och en av flaskorna med NSE IRMA kalibratorer och kontroller ska 500 µL renat vatten tillsättas. Blanda försiktigt och låt stå i 15 min vid rumstemperatur (18-30°C) och blanda försiktigt direkt före användning.

Innehållet i satsen måste anta rumstemperatur före användning. Blanda varje flaska ordentligt före användning.

Förvaring av reagenser efter användning

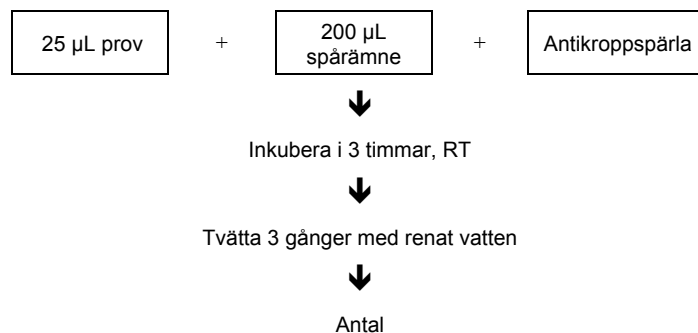
Om hela satsen inte används vid ett tillfälle kan NSE IRMA spårämne och NSE IRMA antikroppsbelagda pärlor förvaras vid 2-8°C till det utgångsdatum som anges på satsen. NSE IRMA kalibratorer och NSE IRMA kontroller måste användas inom 72 timmar vid förvaring med temperaturen 2-8°C eller annars frysas till under -18°C. Upprepad frysning och upptining måste undvikas. Bakteriell förorening av lagrade reagenser måste undvikas.

Testprocedur

Utför varje bestämning i duplikat.

1. Tillsätt 25 µL NSE IRMA kalibrator, patientserum eller NSE IRMA kontroll i varje rätt märkt rör.
2. Tillsätt 200 µL NSE IRMA spårämne i varje rör. (Lösningen har röd färg.) För att uppskatta totalantal (T), tillsätt 200 µL spårämne i ett rör. Räkna radioaktiviteten utan ytterligare bearbetning.
3. Tillsätt en plastpärla i varje rör med plastpincett eller annat lämpligt redskap.
4. Inkubera rören i 3±0,5 timmar vid rumstemperatur (18-30°C).
5. Tvätta varje pärla 3 gånger med 2 mL renat vatten varje gång.
6. Räkna radioaktivitet i en gamma-räknare.

Metodens flödesschema



Bearbetning av resultat

Använd en dator med ett program för hantering av data av IRMA-typ, för att utvärdera NSE-nivåerna i referensserum och patientserum. Alternativt kan antal eller bunden aktivitet (% B/T) upprättas manuellt som funktion av analytkoncentration. För detta rekommenderas diagrampapper av lin-log-typ.

Kvalitetskontroll

Vi rekommenderar att laboratoriet har sin egen uppsättning kvalitetskontrollkalibratorer, förutom NSE IRMA kontroll 1 och 2 som ingår i satsen.

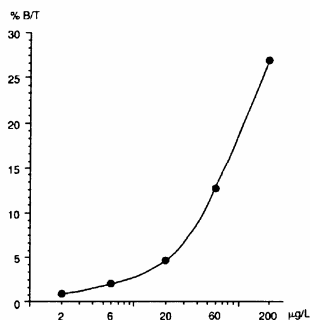
Exempel på resultat

Detta är endast ett **exempel** och ska inte användas i beräkningar.

Prov	CPM	% B/T	NSE µg/L
Total (T)	132 601	–	–
B ₀	720	0,5	–
Kalibrator 2 µg/L	1 369	1,0	2,0
Kalibrator 6 µg/L	2 655	2,0	6,0
Kalibrator 20 µg/L	6 043	4,6	20,0
Kalibrator 60 µg/L	16 589	12,5	60,0
Kalibrator 200 µg/L	35 488	26,8	200,0
Patientprov 1	3 377	2,6	9,5
Patientprov 2	6 195	4,7	20,5
Patientprov 3	13 930	10,5	48,6

Exempel på kalibratorkurva

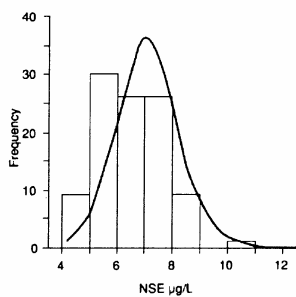
Detta är endast ett **exempel** och ska inte användas i beräkningar.



Förväntade värden och begränsningar för proceduren

I en studie med 100 till synes friska individer konstaterades >95 % ha serum-NSE-värden mindre än 12,5 µg/L. Fördelningen visas i nedanstående figur.

Fördelning av NSE i normala individer



Testegenskaper

Precision

Precision i 10 bestämningar med 5 olika lot Prolifigen® NSE IRMA.

Prov	Medelvärde µg/L	Variationskoefficient inom	
		assay	% Total
1	7,8	8,2	10,6
2	14,5	9,8	11,6
3	58,7	7,5	11,2
4	112,3	8,4	14,2

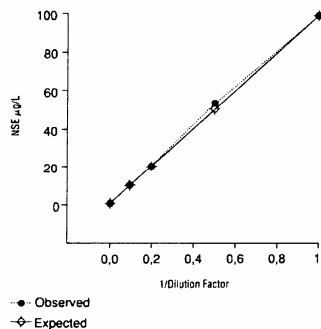
Utbyte

Till ett serumprov med 7,7 µg/L NSE tillsattes olika mängder NSE och koncentrationen bestämdes:

NSE tillsatt µg/L	Förväntat µg/L	Mätvärde µg/L	Utbyte %
170,0	177,7	178,3	100,3
34,0	41,7	41,9	100,5
17,0	24,7	24,7	100,0
3,4	11,1	10,9	98,2
1,7	9,4	9,0	95,7

Spädningskurva

Spädning av serumprov med NSE IRMA spädningsmedel.



Känslighet

Minsta mätbara NSE-värde (B_0 värde + 3 SD) 0,5 µg/L.

Mätområde

Mätområdet är upp till 200 µg/L. Värden över 200 µg/L kan mätas efter spädning av provet med NSE IRMA spädningsmedel och upprepning av testet.

B_0/T

B_0 ska vara mindre än 1 % av T.

Použití

Prolifigen[®] NSE IRMA je test *in vitro* pro kvantitativní stanovení neuron-specifické enolázy (NSE) v lidském séru pro léčbu pacientů se suspektním nebo diagnostikovaným neuroblastomem nebo malobuněčným karcinomem plic.

Princip postupu

Test Prolifigen[®] NSE IRMA je imunoradiometrické (sendvičové) stanovení s jedinou inkubací monoklonální protilátky se dvěma místy. Vzorek je inkubován s plastovou kuličkou potaženou protilátkou proti NSE a protilátkou proti NSE značenou ¹²⁵I. Po vymytí nezreagované radioaktivní protilátky z kuličky se radioaktivita navázaná na kuličku měří pomocí čítače záření gama.

Varování a zvláštní opatření

1. Obecné

- Tento výrobek je určen pouze pro diagnostické použití *in vitro*.
- Tato souprava nesmí být použita po uplynutí data expirace uvedeného na obalu.
- Nemíchejte reagentia různých šarží.
- Přesnost výsledků tohoto stanovení přímo závisí na stupni pečlivosti při pipetování, míchání na vortexu, aspiraci a dodržení metodiky a požadavků na teplotu.
- Azid sodný použitý jako konzervační látka v tomto výrobku může působit dráždivě, proto zabraňte kontaktu s kůží a sliznicemi.
- Zabraňte mikrobiální kontaminaci reagentií.
- Dodržujte běžná bezpečnostní opatření vyžadovaná pro manipulaci se všemi laboratorními reagentií.
- Likvidace veškerého odpadového materiálu musí proběhnout v souladu s místními směrnici.
- Složky soupravy a séra pacientů je nutné považovat za potenciálně infekční a je nutné s nimi manipulovat za dodržení odpovídajících opatření.
- Bezpečnostní listy jsou k dispozici na požádání.

2. Radioaktivní materiál.

Reagentia obsahují jód-125.

Tato souprava obsahuje radioaktivní materiál, jehož množství nepřevyšuje 5,1 μ Ci (188 kBq) jódu 125. Při skladování, manipulaci a likvidaci materiálu je nutné používat odpovídající bezpečnostní opatření a správnou laboratorní praxi.

Pro lékaře/veterináře nebo instituce, jimž jsou dodávány radioizotopy v rámci obecné licence:

Tento radioaktivní materiál mohou obdržet, nabývat, vlastnit a používat pouze lékaři, veterináři, kteří vykonávají veterinární praxi, klinické laboratoře nebo nemocnice, a to pouze pro účely klinických nebo laboratorních testů *in vitro*, při nichž není materiál ani záření, jež z něj vychází, aplikováno vnitřně ani externě lidem ani zvířatům. Jeho obdržení, nabytí, držení, užívání a přeprava podléhá předpisům a obecné licenci Komise pro dohled nad jadernou bezpečností USA (U.S. Nuclear Regulatory Commission) nebo státu, s nímž komise uzavřela dohodu o výkonu regulační pravomoci.

1. Uchovávání radioaktivního materiálu musí být omezeno na speciálně vyhrazené plochy.
2. Přístup k radioaktivním materiálům musí být omezen pouze na autorizované pracovníky.
3. Nepipetujte radioaktivní materiál ústy.
4. V místech vyhrazených pro práci s radioaktivními materiály nejezte ani nepijte.
5. Plochy, kde může dojít k vylití těchto materiálů, je nutné otřít a poté umýt alkalickým detergentem nebo roztokem dekontaminujícím radioaktivitu. Veškeré použité laboratorní sklo musí být před mytím s ostatním laboratorním sklem dokonale opláchnuto vodou.

Pro lékaře/veterináře nebo instituce, jimž jsou dodávány radioizotopy v rámci specifické licence:

Obdržení, používání, přeprava a likvidace radioaktivních materiálů podléhá předpisům a podmínkám konkrétní licence.

VAROVÁNÍ: Tento výrobek obsahuje chemickou látku, o níž je státu Kalifornie známo, že způsobuje rakovinu.

POZOR: Radioaktivita vytištěná na příbalové informaci se může mírně lišit od radioaktivity vytištěné na štítku krabičky a na štítku lahvičky traceru. Štítek krabičky a štítek lahvičky traceru uvádějí skutečné množství radioaktivity k datu kalibrace, zatímco příbalová informace uvádí teoretickou radioaktivitu soupravy.

Složky soupravy

Dále uvedená reagentia jsou dodávána s každou soupravou testu pro 50 testovacích zkumavek.

- 1. Kuličky potažené protilátkou Prolifigen® NSE IRMA**
1 lahvička obsahující >50 suchých kuliček potažených monoklonální protilátkou proti NSE.
- 2. Tracer Prolifigen® NSE IRMA**
1 x 11ml lahvička obsahující monoklonální protilátku proti NSE značenou ¹²⁵I. Celková radioaktivita je nižší než 188 kBq (5,1 µCi). Reagens je zbarveno červeně, aby se usnadnila jeho identifikace.
- 3. Kalibrátory Prolifigen® NSE IRMA**
6 x 0,5ml lahvičky obsahující lyofilizovaný materiál NSE v koncentracích 0, 2, 6, 20, 60 a 200 µg/l.
- 4. Ředící prostředek Prolifigen® NSE IRMA**
1 x 2,5ml lahvička obsahující pufr TRIS s hovězím sérovým albuminem (též se používá jako nulový standard).
- 5. Kontrolní vzorky Prolifigen® NSE IRMA 1 a 2**
2 x 0,5ml lahvičky obsahující lyofilizovaný NSE v pufru.

Poznámka: Reagentia 2, 3, 4 a 5 uvedená výše obsahují jako konzervační látku azid sodný (< 0,1 %).

Každá souprava Prolifigen® NSE IRMA postačuje pro 17 vzorků, kontrolních vzorků a jednu kalibrační křivku ve dvou paralelách. Pokud je potřebné větší množství zkumavek, používejte slitá a promíchaná reagentia pouze ze souprav označených stejným číslem šarže. Promíchejte jemně tak, aby se netvořila pěna.

Před použitím uchovávejte soupravu Prolifigen® NSE IRMA při teplotě 2–8 °C.

Další potřebné materiály, nejsou součástí dodávky

- Polystyrenové testovací zkumavky se zakulaceným dnem (12 x 70–75 mm), jednorázové.
- Stojan na testovací zkumavky.
- Mikropipeta (25 µl) a mikrodávkočnice (200 µl, 500 µl, 2,5 ml).
- Purifikovaná voda dobré kvality.
- Třepačka vortex.
- Systém pro vymývání kuliček nebo 2ml opakovací dávkočnice pro přidávání promývací tekutiny a vakuový aspirátor.
- Čítač gama záření nastavený na jód ¹²⁵I. Účinnost čítače by měla být >40 %.
- Plastová pinzeta nebo dávkočnice kuliček pro přidávání kuliček do zkumavek.
- Potřeby pro manipulaci s radioaktivním materiálem a jeho likvidaci včetně ochranných rukavic a dalších osobních ochranných prostředků.
- Počítač s programem pro hodnocení křivek typu IRMA nebo kalkulačka, semilogaritmický papír.

Identifikovatelnost kalibrátorů a kontrolních vzorků

Kalibrátory a kontrolní vzorky soupravy se skládají z neuron-specifické enolázy (NSE). Tato NSE pochází z purifikovaného a dobře charakterizovaného materiálu. Kalibrátory a kontrolní vzorky jsou kalibrovány podle vlastního referenčního materiálu NSE výrobce.

Odběr, příprava a uchovávání vzorků

- Stanovení NSE ze použít pouze sérum. Plazma se nedoporučuje, neboť NSE se může uvolnit z trombocytů.
- Vzorky krve je nutné odebrat před aplikací jakékoli léčby (počáteční nebo opakované).
- Vzorky odebírejte standardními postupy. *Při delším skladování krve může dojít k uvolnění NSE z krevních buněk.*
- Pokud bude test vzorku proveden do 72 hodin, uchovávejte vzorek při 2-8 °C. Pokud test vzorku nebude proveden do 72 hodin, zmrazte na teplotu nižší než -18 °C.
- Nepoužívejte vzorky, které jsou viditelně hemolytické (absorbance vzorku při 500 nm nesmí být vyšší než 0,3), kontaminované nebo výrazně lipemické.
- Vzorky, u nichž bylo zjištěno, že obsahují >200 µg/l, lze naředit ředícím prostředkem NSE IRMA a získat tak přesné hodnoty. Naředěné vzorky je nutné před provedením stanovení dokonale promíchat a při konečném výpočtu je nutné vzít v úvahu faktor ředění.
- Zmrazená séra je nutné po rozmrazení jemně, ale dokonale promíchat.

Příprava reagensů před použitím

Ke každé lahvičce kalibrátorů a kontrolních vzorků NSE IRMA přidejte 500 µl purifikované vody. Jemně promíchejte, nechte stát 15 minut při pokojové teplotě (18–30 °C) a těsně před použitím jemně promíchejte.

Před použitím nechte obsah soupravy ohřát na pokojovou teplotu. Každou lahvičku před použitím dobře promíchejte.

Uchovávání reagensů po použití

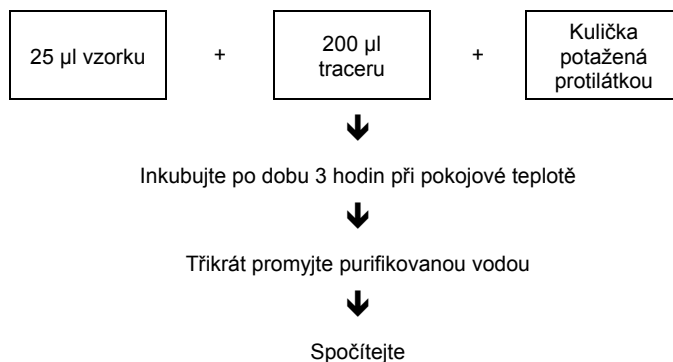
Pokud není celá souprava použita najednou, lze tracer NSE IRMA a kuličky potažené protilátkou NSE IRMA uchovávat při 2–8 °C do data expirace soupravy. Pokud jsou kalibrátory NSE IRMA a kontrolní vzorky NSE IRMA uchovávány při 2–8 °C, musí být použity do 72 hodin, nebo musí být zmrazeny na teplotu nižší než -18 °C. Materiály nelze opakovaně zmrazovat a rozmrazovat. Zabraňte bakteriální kontaminaci uchovávaných reagensů.

Postup stanovení

Každé stanovení provádějte ve dvou paralelách.

1. Přidejte 25 µl kalibrátoru NSE IRMA, sérum pacienta nebo kontrolní vzorek NSE IRMA do každé správně označené zkumavky.
2. Do každé zkumavky přidejte 200 µl traceru NSE IRMA. (Roztok má červenou barvu.) Pro odhad celkového množství impulsů (T) přidejte do zkumavky 200 µl traceru. Spočítejte radioaktivitu bez dalšího zpracování.
3. Přidejte jednu plastovou kuličku do každé zkumavky pomocí plastové pinzety nebo dávkovače kuliček.
4. Inkubujte zkumavky po dobu 3±0,5 hodiny při pokojové teplotě (18–30 °C).
5. Každou kuličku třikrát promyjte pokaždé 2 ml purifikované vody.
6. Spočítejte radioaktivitu čítačem záření gama.

Vývojový diagram metody



Zpracování výsledků

Pro hodnocení hladin NSE v referenčních sérech a sérech pacientů použijte počítač s programem pro manipulaci s údaji typu IRMA. Jako alternativní metodu lze použít ruční vynesení počtu impulsů nebo navázanou aktivitu (% B/T) proti koncentraci analytu. Za tímto účelem se doporučuje použít semilogaritmický papír.

Řízení jakosti

Doporučuje se, aby laboratoř měla kromě kontrolních vzorků NSE IRMA 1 a 2, obsažených v soupravě, svou vlastní sadu kalibrátorů pro řízení jakosti.

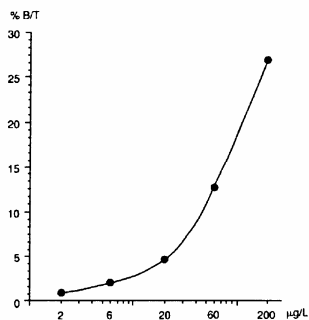
Příklad výsledků

Toto je pouze **příklad** a nelze ho použít při výpočtech.

Vzorek	CPM	% B/T	NSE µg/l
Celkem (T)	132 601	–	–
B ₀	720	0,5	–
Kalibrátor 2 µg/l	1 369	1,0	2,0
Kalibrátor 6 µg/l	2 655	2,0	6,0
Kalibrátor 20 µg/l	6 043	4,6	20,0
Kalibrátor 60 µg/l	16 589	12,5	60,0
Kalibrátor 200 µg/l	35 488	26,8	200,0
Vzorek pacienta 1	3 377	2,6	9,5
Vzorek pacienta 2	6 195	4,7	20,5
Vzorek pacienta 3	13 930	10,5	48,6

Příklad kalibrační křivky

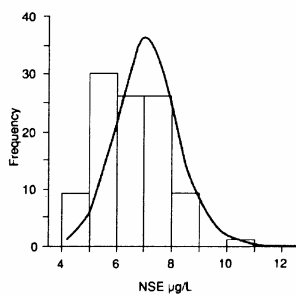
Toto je pouze **příklad** a nelze ho použít při výpočtech.



Předpokládané hodnoty a omezení postupu

Ve studii 100 zjevně zdravých jednotlivců bylo zjištěno, že >95 % mělo hodnoty NSE v séru nižší než 12,5 µg/l. Distribuce je zobrazena na následujícím obrázku.

Distribuce NSE u normálních subjektů



Charakteristiky testu

Přesnost

Přesnost 10 stanovení za použití 5 různých šarží Prolifigen® NSE IRMA.

Vzorek	Průměr µg/l	Variační koeficient v rámci stanovení	% celkem
1	7,8	8,2	10,6
2	14,5	9,8	11,6
3	58,7	7,5	11,2
4	112,3	8,4	14,2

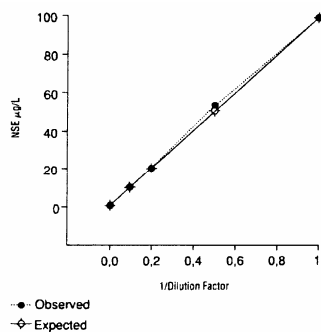
Výtěžnost (recovery)

Do vzorku séra obsahujícího 7,7 µg/l NSE byla přidána různá množství NSE a byla stanovena koncentrace:

Přidaná NSE µg/l	Předpokládaná koncentrace µg/l	Zjištěná koncentrace µg/l	Výtěžnost (recovery) %
170,0	177,7	178,3	100,3
34,0	41,7	41,9	100,5
17,0	24,7	24,7	100,0
3,4	11,1	10,9	98,2
1,7	9,4	9,0	95,7

Křivka ředění

Ředění vzorku séra ředicím prostředkem NSE IRMA.



Citlivost

Minimální měřitelná hodnota NSE (hodnota $B_0 + 3 SD$) 0,5 µg/l.

Rozsah měření

Horní hranice rozsahu měření je 200 µg/l. Hodnoty vyšší než 200 µg/l lze měřit po naředění vzorku ředicím prostředkem NSE IRMA a zopakováním stanovení.

B_0/T

B_0 by mělo být menší než 1 % T.

Χρήση για την οποία προορίζεται

Το Prolifigen® NSE IRMA είναι ένας προσδιορισμός *in vitro* που προορίζεται για τον ποσοτικό προσδιορισμό της ειδικής ενολάσης νευρώνα (NSE) σε ορό ανθρώπων και χρησιμοποιείται για τη διαχείριση ασθενών με ύποπτο ή διαγνωσμένο νευροβλάστωμα και μικροκυτταρικό καρκίνο των πνευμόνων.

Αρχή της διαδικασίας

Το Prolifigen® NSE IRMA είναι ένας μονοκλωνικός ανοσοραδιομετρικός (σάντουιτς) προσδιορισμός δύο τοποθεσιών και μονής επώασης. Το δείγμα επωάζεται με μια πλαστική σφαίρα επικαλυμμένη με αντίσωμα έναντι της NSE και αντίσωμα έναντι της NSE επισημασμένης με ¹²⁵I. Μετά το πλύσιμο του ραδιενεργού αντισώματος που δεν έχει αντιδράσει από τη σφαίρα, γίνεται μέτρηση με μετρητή γάμα της ραδιενέργειας που είναι δεσμευμένη στη σφαίρα.

Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις για τους χρήστες

1. Γενικά
 - Το προϊόν αυτό προορίζεται μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*.
 - Αυτό το κιτ δεν θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στη συσκευασία.
 - Μην αναμιγνύετε αντιδραστήρια από διαφορετικές παρτίδες.
 - Η ακρίβεια των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού αυτού σχετίζεται άμεσα με το βαθμό προσοχής που ασκείται κατά την τοποθέτηση των αντιδραστηρίων με πιπέτα, το στροβιλισμό (vortex), την αναρρόφηση και την τήρηση της μεθοδολογίας και των θερμοκρασιακών απαιτήσεων.
 - Το αζίδιο του νατρίου, το οποίο χρησιμοποιείται στο προϊόν αυτό ως συντηρητικό, μπορεί να προκαλέσει ερεθισμό. Για το λόγο αυτό, αποφύγετε την επαφή με το δέρμα και τις βλεννογόνους μεμβράνες.
 - Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων.
 - Τηρήστε τις κανονικές προφυλάξεις που απαιτούνται για το χειρισμό όλων των εργαστηριακών αντιδραστηρίων.
 - Η απόρριψη όλων των απόβλητων υλικών θα πρέπει να βρίσκεται σε συμφωνία με τις τοπικές κατευθυντήριες γραμμές.
 - Τα συστατικά του κιτ, καθώς και ο ορός ασθενών, πρέπει να θεωρούνται δυνητικές μολυσματικές ουσίες και ο χειρισμός τους θα πρέπει να γίνεται με επαρκείς προφυλάξεις.
 - Διατίθενται φύλλα δεδομένων ασφάλειας υλικών, κατόπιν αίτησης.

2. Ραδιενεργό υλικό

Αντιδραστήρια που περιέχουν ιώδιο 125

Το κιτ αυτό περιέχει ραδιενεργό υλικό το οποίο δεν υπερβαίνει τα 5,1 μCi (188 kBq) σε ιώδιο 125. Κατά τη φύλαξη, το χειρισμό και τη διάθεση του υλικού αυτού, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται κατάλληλες προφυλάξεις και καλές εργαστηριακές πρακτικές.

Προς ιατρούς ή ιδρύματα που παραλαμβάνουν ραδιοϊσότοπα κάτω από γενική άδεια:

Το παρόν ραδιενεργό υλικό μπορεί να ληφθεί, να αποκτηθεί, να κατέχεται και να χρησιμοποιείται μόνο από ιατρούς, κτηνίατρος που εξασκούν κτηνιατρική ιατρική, κλινικά εργαστήρια ή νοσοκομεία και μόνο για κλινικές ή εργαστηριακές δοκιμές *in vitro* που δεν περιλαμβάνουν την εσωτερική ή εξωτερική χορήγηση του υλικού, ή της ακτινοβολίας αυτού, σε ανθρώπους και ζώα. Η παραλαβή, η απόκτηση, η κατοχή, η χρήση και η μεταφορά υπόκεινται στους κανονισμούς και τη γενική άδεια της Ρυθμιστικής Επιτροπής Πυρηνικών των Η.Π.Α. (NRC) της πολιτείας στην οποία η επιτροπή έχει συνάψει συμφωνία για την άσκηση καθηκόντων αρμόδιας αρχής.

1. Η φύλαξη του ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να περιοριστεί σε ειδικά επισημασμένο χώρο.
2. Η πρόσβαση σε ραδιενεργά υλικά πρέπει να περιοριστεί μόνο σε εξουσιοδοτημένο προσωπικό.
3. Μη χρησιμοποιείτε πιπέτα με το στόμα σε ραδιενεργά διαλύματα.

4. Μην τρώτε ή πίνετε εντός των χώρων εργασίας που έχουν επισημανθεί ως ραδιενεργοί.
5. Οι περιοχές, όπου ενδεχομένως έχουν προκληθεί εκχύσεις, θα πρέπει να σκουπιστούν και κατόπιν να πλυθούν με αλκαλικό απορρυπαντικό ή ραδιολογικό απολυμαντικό διάλυμα. Τυχόν υάλινα σκεύη που χρησιμοποιήθηκαν πρέπει να εκπλυθούν καλά με νερό πριν από την πλύση άλλων εργαστηριακών υάλινων σκευών.

Προς ιατρούς ή ιδρύματα που παραλαμβάνουν ραδιοϊσότοπα κάτω από ειδική άδεια:

Η παραλαβή, η χρήση, η μεταφορά και η διάθεση των ραδιενεργών υλικών υπόκεινται στους κανονισμούς και τις συνθήκες της ειδικής άδειάς σας.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ: Το προϊόν αυτό περιέχει μια χημική ουσία η οποία είναι γνωστό από την πολιτεία της Καλιφόρνιας ότι προκαλεί καρκίνο.

ΠΡΟΣΟΧΗ: Η ραδιενέργεια που αναγράφεται στο ένθετο συσκευασίας μπορεί να διαφέρει ελαφρώς από τη ραδιενέργεια που αναγράφεται στην ετικέτα συσκευασίας ή στην ετικέτα φιαλιδίου ιχνηθέτη. Η ετικέτα συσκευασίας και η ετικέτα φιαλιδίου ιχνηθέτη υποδεικνύουν την πραγματική ποσότητα ραδιενέργειας κατά την ημερομηνία βαθμονόμησης, ενώ το ένθετο συσκευασίας υποδεικνύει τη θεωρητική ραδιενέργεια του κιτ.

Συστατικά πακέτου

Τα ακόλουθα αντιδραστήρια παρέχονται με κάθε πακέτο δοκιμής για 50 δοκιμαστικούς σωλήνες προσδιορισμού:

1. **Σφαίρες επικαλυμμένες με Prolifigen® NSE IRMA**
1 φιαλίδιο που περιέχει >50 ξηρές σφαίρες επικαλυμμένες με μονοκλωνικά αντισώματα έναντι της NSE.
2. **Ιχνηθέτης Prolifigen® NSE IRMA**
1 x 11 mL φιαλίδιο που περιέχει μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι της NSE επισημασμένο με ¹²⁵I. Η συνολική ραδιενέργεια είναι λιγότερη από 188 kBq (5,1 μCi). Χρωματισμένο κόκκινο για να διευκολύνεται η αναγνώριση.
3. **Βαθμονομητές Prolifigen® NSE IRMA**
6 x 0,5mL φιαλίδια που περιέχουν λυοφιλιωμένο υλικό NSE. Οι συγκεντρώσεις είναι 0, 2, 6, 20, 60 και 200 μg/L, αντίστοιχα.
4. **Αραιωτικό Prolifigen® NSE IRMA**
1 x 2,5mL φιαλίδιο που περιέχει ρυθμιστικό διάλυμα TRIS με βόεια λευκωματίνη ορού (χρησιμοποιείται επίσης ως μηδενικό πρότυπο).
5. **Υλικά ελέγχου 1 και 2 Prolifigen® NSE IRMA**
2 x 0,5mL φιαλίδιο που περιέχει NSE σε ρυθμιστικό διάλυμα, λυοφιλιωμένο.

Σημείωση: Τα παραπάνω αντιδραστήρια 2, 3, 4 και 5 περιέχουν <0,1% αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό.

Κάθε πακέτο Prolifigen® NSE IRMA επαρκεί για 17 δείγματα, τα υλικά ελέγχου και μία καμπύλη βαθμονομητή εις διπλούν. Σε περίπτωση που απαιτούνται περισσότεροι δοκιμαστικοί σωλήνες, χρησιμοποιήστε μόνο αντιδραστήρια αναμιγμένα από πακέτα που έχουν τον ίδιο αριθμό παρτίδας πακέτου. Αναμίξτε απαλά για να αποφύγετε τη δημιουργία αφρού.

Πριν από τη χρήση, το πακέτο Prolifigen® NSE IRMA θα πρέπει να φυλάσσεται στους 2 έως 8°C.

Λοιπά υλικά που απαιτούνται, αλλά δεν παρέχονται

- Δοκιμαστικοί σωλήνες πολυστυρενίου με στρογγυλό πάτο (12 x 70-75 χλστ), μίας χρήσης.
- Βάση δοκιμαστικών σωλήνων
- Μικροπιπέτα (25 μL) και μικροδιανομείς (200 μL, 500 μL, 2,5 mL).
- Κεκαθαρμένο νερό καλής ποιότητας.
- Όργανο περιδίνησης (vortex)

- Σύστημα πλύσης σφαιρών, ή επαναλαμβανόμενος διανομέας 2 mL για την προσθήκη υγρού πλύσης και μια συσκευή αναρρόφησης με κενό.
- Μετρητής γάμα ρυθμισμένος για ¹²⁵Iώδιο. Η αποδοτικότητα του μετρητή θα πρέπει να είναι >40%.
- Πλαστική λαβίδα ή διανομέας σφαιρών για την προσθήκη των σφαιρών στους δοκιμαστικούς σωλήνες.
- Ο εξοπλισμός για το χειρισμό και την απόρριψη του ραδιενεργού υλικού περιλαμβάνουν προστατευτικά γάντια και άλλες συσκευές ατομικής προστασίας.
- Υπολογιστής με πρόγραμμα για την αξιολόγηση καμπυλών τύπου IRMA ή αριθμομηχανή και γραφικό χαρτί τύπου lin-log.

Ιχνηλασιμότητα των βαθμονομητών και των υλικών ελέγχου

Οι βαθμονομητές και τα υλικά ελέγχου του πακέτου αποτελούνται από ειδική ενολήση νευρώνα (NSE). Αυτή η NSE προέρχεται από κεκαθαρισμένο και καλώς χαρακτηρισμένο υλικό. Οι βαθμονομητές και τα υλικά ελέγχου έχουν βαθμονομηθεί με εσωτερικό υλικό αναφοράς NSE.

Συλλογή, προετοιμασία και φύλαξη δειγμάτων

- Για τον ποσοτικό προσδιορισμό της NSE, μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο ορός. Δεν συνιστάται η χρήση πλάσματος επειδή μπορεί να εκλυθεί NSE από τα θρομβοκύτταρα.
- Τα δείγματα αίματος θα πρέπει να λαμβάνονται πριν τη χορήγηση οποιασδήποτε θεραπείας, είτε αυτή είναι η αρχική θεραπεία είτε πρόκειται για επαναλαμβανόμενη θεραπεία.
- Συλλέξτε δείγματα χρησιμοποιώντας τυπικές διαδικασίες. *Με την παρατεταμένη φύλαξη του αίματος, μπορεί να εκλυθεί NSE από τα αιμοσφαίρια.*
- Σε περίπτωση που ο προσδιορισμός του δείγματος γίνει εντός 72 ωρών, φυλάξτε το στους 2 έως 8°C. Σε περίπτωση που ο προσδιορισμός του δείγματος δεν θα γίνει εντός 72 ωρών, καταψύξτε το σε θερμοκρασίες χαμηλότερες από τους -18°.
- Μη χρησιμοποιείτε δείγματα που είναι ορατώς αιμολυτικά (η απορρόφηση του δείγματος στα 500nm δεν θα πρέπει να υπερβεί την τιμή 0,3), μολυσμένα ή υπερβολικά λιπαιμικά.
- Τα δείγματα, για τα οποία έχει βρεθεί ότι περιέχουν >200 μg/L, μπορούν να αραιωθούν με αραιωτικό NSE IRMA για τη λήψη ακριβών τιμών. Θα πρέπει να αναμιξέτε απαλά, αλλά καλά, το αραιωμένο δείγμα πριν από τον προσδιορισμό, ενώ θα πρέπει να λάβετε υπόψη το συντελεστή αραιώσης στον τελικό υπολογισμό.
- Ο καταψυγμένος ορός θα πρέπει να αναμιγνύεται απαλά και καλά, μετά την απόψυξή του.

Προετοιμασία των αντιδραστηρίων πριν τη χρήση

Σε κάθε φιαλίδιο βαθμονομητή και υλικού ελέγχου NSE IRMA, προσθέστε 500 μL κεκαθαρισμένου νερού. Αναμίξτε απαλά, αφήστε τα φιαλίδια ακίνητα για 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (18 έως 30°C) και αναμίξτε απαλά μόλις πριν από τη χρήση. Αφήστε το περιεχόμενο του πακέτου να φτάσει σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση. Αναμίξτε καλά κάθε φιαλίδιο πριν από τη χρήση.

Φύλαξη αντιδραστηρίων μετά τη χρήση

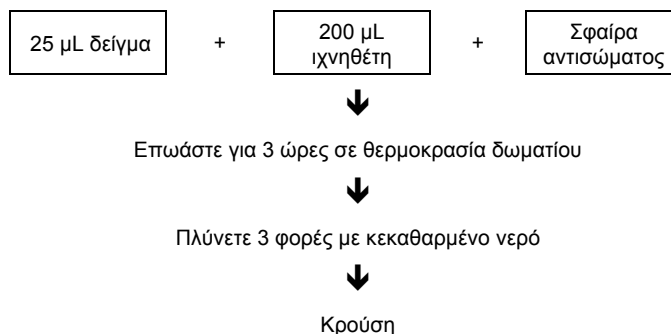
Σε περίπτωση που δεν χρησιμοποιήσετε μαζί όλο το πακέτο, θα πρέπει να φυλάξετε τον ιχνηθέτη NSE IRMA και τις επικαλυμμένες με αντίσωμα σφαίρες NSE IRMA στους 2 έως 8°C έως την ημερομηνία λήξης του πακέτου. Οι βαθμονομητές NSE IRMA και τα υλικά ελέγχου NSE IRMA πρέπει να χρησιμοποιούνται εντός 72 ωρών σε περίπτωση που φυλάσσονται στους 2 έως 8°C, διαφορετικά καταψύξτε τους σε θερμοκρασίες χαμηλότερες από -18°C. Θα πρέπει να αποφεύγετε την επαναλαμβανόμενη κατάψυξη και απόψυξη. Θα πρέπει να αποφεύγεται η βακτηριακή μόλυνση των αποθηκευμένων αντιδραστηρίων.

Διαδικασία δοκιμής

Εκτελέστε κάθε προσδιορισμό εις διπλούν.

1. Προσθέστε 25 μL βαθμονομητή NSE IRMA, ορό ασθενή ή υλικό ελέγχου NSE IRMA σε κάθε σημειωμένο δοκιμαστικό σωλήνα.
2. Προσθέστε 200 μL ιχνηθέτη NSE IRMA σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα. (Το διάλυμα έχει ερυθρό χρώμα). Για να υπολογίσετε τις συνολικές κρούσεις (T), προσθέστε 200 μL ιχνηθέτη σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα. Μετρήστε τη ραδιενέργεια χωρίς περαιτέρω επεξεργασία.
3. Προσθέστε μία πλαστική σφαίρα σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα με χρήση της πλαστικής λαβίδας ή του διανομέα σφαιρών.
4. Επώαστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες για $3 \pm 0,5$ ώρες σε θερμοκρασία δωματίου (18 έως 28°C).
5. Πλύνετε κάθε σφαίρα 3 φορές με 2 mL κεκαθαμένου νερού σε κάθε πλύση.
6. Μετρήστε τη ραδιενέργεια σε μετρητή γάμα.

Διάγραμμα ροής της μεθόδου



Επεξεργασία αποτελεσμάτων

Χρησιμοποιήστε έναν υπολογιστή που διαθέτει πρόγραμμα για το χειρισμό δεδομένων τύπου IRMA ώστε να αξιολογηθούν τα επίπεδα NSE στον ορό αναφοράς και τον ορό ασθενών. Εναλλακτικά, μπορείτε να σχεδιάσετε με το χέρι τις κρούσεις ή τη δεσμευμένη ραδιενέργεια (% B/T) σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση της αναλυόμενης ουσίας. Για το λόγο αυτό, συνιστάται γραφικό χαρτί lin-log.

Ποιοτικός έλεγχος

Συνιστάται το εργαστήριο να διαθέτει δικούς του βαθμονομητές ελέγχου ποιότητας, εκτός των υλικών ελέγχου 1 και 2 NSE IRMA που παρέχονται με το πακέτο.

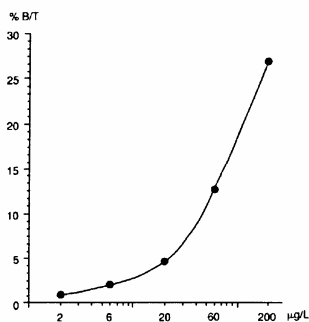
Παράδειγμα αποτελεσμάτων

Το παρακάτω αποτελεί μόνο ένα παράδειγμα και δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται για τους υπολογισμούς.

Δείγμα	CPM	% B/T	NSE $\mu\text{g/L}$
Σύνολο (T)	132 601	–	–
B ₀	720	0,5	–
Βαθμονομητής 2 $\mu\text{g/L}$	1 369	1,0	2,0
Βαθμονομητής 6 $\mu\text{g/L}$	2 655	2,0	6,0
Βαθμονομητής 20 $\mu\text{g/L}$	6 043	4,6	20,0
Βαθμονομητής 60 $\mu\text{g/L}$	16 589	12,5	60,0
Βαθμονομητής 200 $\mu\text{g/L}$	35 488	26,8	200,0
Δείγμα ασθενή 1	3 377	2,6	9,5
Δείγμα ασθενή 2	6 195	4,7	20,5
Δείγμα ασθενή 3	13 930	10,5	48,6

Υπόδειγμα καμπύλης βαθμονομητή

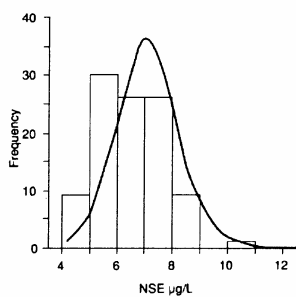
Το παρακάτω αποτελεί μόνο ένα παράδειγμα και δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται για τους υπολογισμούς.



Αναμενόμενες τιμές και περιορισμοί της διαδικασίας

Σε μελέτη με 100 φαινομενικά υγιή άτομα, βρέθηκε ότι >95 % είχαν τιμές NSE ορού μικρότερες από 12,5 $\mu\text{g/L}$. Η κατανομή παρουσιάζεται στο παρακάτω σχήμα.

Κατανομή NSE σε φυσιολογικά άτομα



Χαρακτηριστικά δοκιμής

Ακρίβεια

Ακρίβεια σε 10 προσδιορισμούς με χρήση 5 διαφορετικών παρτίδων Prolifigen® NSE IRMA.

Δείγμα	Μέση τιμή µg/L	Συντελεστής διακύμανσης εντός του ίδιου προσδιορισμού	% Σύνολο
1	7,8	8,2	10,6
2	14,5	9,8	11,6
3	58,7	7,5	11,2
4	112,3	8,4	14,2

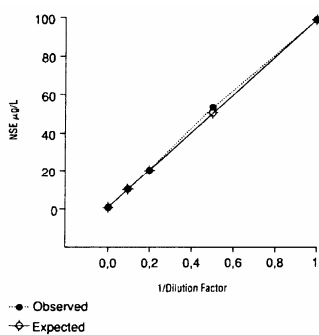
Ανάκτηση

Προστέθηκαν διαφορετικές ποσότητες NSE σε δείγμα ορού που περιέχει 7,7 µg/L NSE και υπολογίστηκε η συγκέντρωση:

NSE που προστέθηκε µg/L	Αναμενόμενη τιμή µg/L	Παρατηρούμενη τιμή µg/L	Ανάκτηση %
170,0	177,7	178,3	100,3
34,0	41,7	41,9	100,5
17,0	24,7	24,7	100,0
3,4	11,1	10,9	98,2
1,7	9,4	9,0	95,7

Καμπύλη αραίωσης

Αραίωση δείγματος ορού με αραιωτικό NSE IRMA.



Ευαισθησία

Η ελάχιστη μετρούμενη τιμή NSE (τιμή $B_0 + 3 TA$) είναι 0,5 µg/L.

Περιοχή τιμών μέτρησης

Η περιοχή τιμών μέτρησης φτάνει τα 200 µg/L. Μπορείτε να μετρήσετε τις τιμές που υπερβαίνουν τα 200 µg/L μετά από αραίωση του δείγματος με αραιωτικό NSE IRMA και επανάληψη του προσδιορισμού.

B_0/T

Το B_0 θα πρέπει να είναι μικρότερο από 1% του T.

**REFERENCES/LITERATUR/RÉFÉRENCES/BIBLIOGRAFIA/REFERENCIAS/
REFERENCE/REFERENSER/SEZNAM LITERATURY/BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΚΈΣ ΑΝΑΦΟΡΈΣ**

1. Ariyoshi Y, Kanefusa KI, Ishiguero Y et al: Evaluation of serum neuron-specific enolase as a marker for carcinoma of the lung. *Gann* 74 (1983) 219–225.
2. Carney DNB, Ihde DC, Cohen MH et al: Serum neuron specific enolase: a marker for disease extent and response to therapy of small-cell lung cancer. *Lancet* 1982;i, 583–585.
3. Cooper EH, Pritchard J, Baily CC, Ninane J: Serum neuron specific enolase in childrens cancer. *Br J Cancer* 56 (1984) 65–67.
4. Esscher T, Steinholtz L, Bergh J et al: Neuron specific enolase: A useful diagnostic serum marker for small cell carcinoma of the lung. *Thorax* 40 (1985) 85–90.
5. Fujita K, Haimoto H, Imaizumi M et al: Evaluation of g-enolase as a tumor marker for lung cancer. *Cancer* 60 (1987) 362–369.
6. Gerbitz K-D, Summer J, Schumacher I et al: Enolase isoenzymes as tumour markers. *J Clin Chem Clin Biochem* 24 (1986) 1009–1016.
7. Johnson DH, Marangos PJ, Forbes JT et al: Potential utility of serum neuronspecific enolase levels in small cell carcinoma of the lung. *Cancer Res* 44 (1984) 5409–5414.
8. Pålman S, Esscher T, Bergh J et al: Neuron specific enolase as marker for neuroblastoma and small cell carcinoma of the lung. *Tumor Biology* 5 (1984) 119–126.
9. Phålman S, Esscher T, Bergvall T et al: Purification and characterization of human neuron-specific enolase: radioimmunoassay development. *Tumor Biol* 5 (1984) 127–139.

The data presented in this instruction booklet has been carefully compiled from our records and from the scientific literature and we believe them to be accurate and reliable. We do not, however, give any warranties or make any representations with respect hereto, nor is freedom from any patent to be inferred.

Die in dieser Gebrauchsinformation verwendeten Daten wurden sorgfältig aus unseren Unterlagen und wissenschaftlichen Publikationen zusammengestellt. Für ihre Genauigkeit und Zuverlässigkeit kann keine Haftung übernommen werden. Verwendete Patente wurden nicht extra gekennzeichnet, auf eine Freistellung hiervon darf jedoch nicht geschlossen werden.

Les données présentées dans ce mode d'emploi sont une compilation soignée de nos observations et de la littérature scientifique et nous les considérons exactes et fiables. Cependant, nous ne donnons aucune garantie ni interprétation à ce sujet, ni n'excluons la possibilité que ces informations puissent faire l'objet de brevets.

I dati riportati in questo libretto di istruzioni sono stati ricavati dai nostri esperimenti e dalla letteratura scientifica e vengono da noi considerati accurati ed affidabili. In ogni modo non viene fornita alcuna garanzia per quanto riguarda la riproduzione dei dati. Nè escludiamo la possibilità che questi informazioni siano oggetto di brevetti.

Los datos presentados en este folleto de instrucciones han sido cuidadosamente recopilados a partir de nuestros registros y de textos científicos, y consideramos que son precisos y fiables. No obstante, no ofrecemos ninguna garantía ni realizamos ninguna aseveración respecto a los anteriores, ni se debe inferir que estén libres de ninguna patente.








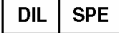
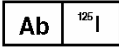



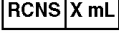
Datamaterialet vist i denne instruktionsfolder er grundigt udarbejdet ud fra vores optegnelser og videnskabelige litteratur, og vi mener, at det er nøjagtigt og pålideligt. Vi afgiver dog ingen garantier eller anbringender desangående, og der kan ej heller udledes nogen form for patentfrihed.

Data som beskrivs i denna bruksanvisning har omsorgsfullt sammanställts från egen information och från vetenskaplig litteratur och dess riktighet och tillförlitlighet har kontrollerats. Vi kan dock inte garantera informationens tillförlitlighet och inte heller frihet från patenträttigheter.

Informace uvedené v tomto návodu k použití byly pečlivě vybrány z našich záznamů a z odborné literatury a jsme přesvědčeni o jejich přesnosti a spolehlivosti. Nicméně nemůžeme poskytnout žádné záruky a nerespektujeme ani žádné nároky vztažené k těmto informacím ani nároky vztažené k patentům.









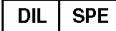
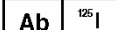


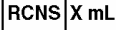
Τα στοιχεία που παρουσιάζονται σε αυτό το φυλλάδιο οδηγιών συγκεντρώθηκαν με προσοχή από τα αρχεία μας και την επιστημονική βιβλιογραφία και πιστεύουμε ότι είναι ακριβή και αξιόπιστα. Ωστόσο, δεν παρέχουμε εγγυήσεις ούτε αντιπροσωπεύσεις σχετικά με όσα αναφέρονται στο παρόν και ούτε πρέπει να εκληφθεί ως δεδομένη η εξαίρεση από οποιαδήποτε ευρεσιτεχνία.

Symbols used with devices

	English	Français	Deutsch	Español	Italiano
	European Conformity	Conformité aux normes européennes	CE – Konformitätskennzeichnung	Conformidad europea	Conformità europea
	Expiration Date	Date limite d'utilisation	Mindesthaltbarkeitsdatum	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Manufacturer	Fabricant	Hersteller	Fabricante	Fabbricante
	Consult Instructions for Use	Consulter les instructions d'utilisation	Gebrauchsanweisung beachten	Consulte las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso
	In vitro diagnostic.	Diagnostic in vitro.	In-vitro-Diagnostikum.	Diagnóstico in vitro.	Diagnostica in vitro.
	Temperature limitation.	Limitation de température.	Temperaturbereich	Limitación de temperatura	Limite della temperatura
	Solid phase (Coated beads)	Phase solide (Billes enduites)	Festphase (Beschichtete Kügelchen)	Fase sólida (Perlas recubiertas)	Fase solida (/Perle con rivestimento)
	Sample Diluent	Diluant d'échantillon	Proben-Diluent	Diluyente de muestras	Diluyente campione
	Tracer: antibody labelled with ¹²⁵ I	Traceur : anticorps marqué à l'iode ¹²⁵	Tracer: ¹²⁵ I-markierter Antikörper	Trazador: anticuerpo etiquetado con ¹²⁵ I	Tracciatore: anticorpo etichettato con ¹²⁵ I
	Calibrator	Étalon	Kalibrator	Calibrador	Calibratore
	Control serum	Sérum de contrôle	Kontrollserum	Suero de control	Siero di controllo
	Lot	No. de lot	Chargen-Nr.	Número de lote	Lotto n°
	Reconstitute with X mL	Reconstituer avec X mL	Mit X mL auflösen	Reconstitución con X mL	Ricostituire con X mL

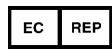
SYMBOLS USED WITH DEVICES CONTINUED ON NEXT PAGE.

Continued from previous page - Symbols used with devices

	Dansk	Svenska	Česky	Ελληνικά
	Europæisk øverensstämmeise	Europeisk øverensstämmeise	Značka evropské shody	Ευρωπαϊκή Συμμόρφωση
	Udløbsdato	Utgångsdatum	Datum ukončení použitelnosti	Ημερομηνία Λήξης
	Producent	Tilverkare	Výrobce	Κατασκευαστής
	Se brugsanvisning	Se bruksanvisningen	Prostudujte návod k použití	Συμβουλευτείτε τις Οδηγίες Χρήσης
	In vitro diagnostik.	Diagnostik in vitro.	Diagnostický prostředek in vitro	In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν.
	Parti nummer	Batch-nummer	Číslo šarže	Αρ. παρτίδας
	Temperaturgrænse	Temperatur- begrænsning.	Teplotní limit	Περιορισμοί θερμοκρασίας
	Fast fase (Coatede slanger)	Solid fas (Belagda strångar)	Pevná fáze (potážené kuličky)	Στερεή φάση (/Επικαλυμμένες χάντρες)
	Fortyndingsvæske, prøve	Provtvådningsmedel	Ředící prostředek	Αραιωτικό δείγματος
	Tracer: antistof mærket med ¹²⁵ I	Spårelement: antikropp betecknad med ¹²⁵ I	Tracer: protilátka značená ¹²⁵ I	Ιχνηθέτης: Αντίσωμα σημασμένο με ¹²⁵ I
	Kalibrator	Kalibrator	Kalibrátor	Βαθμονομητής
	Kontrolserum	Kontrollserum	Kontrolní sérum	Ορός μάρτυρα
	Rekonstitution Med x mL	Rekonstituera med X mL	Rekonstituujte X ml	Ανασύσταση με X mL

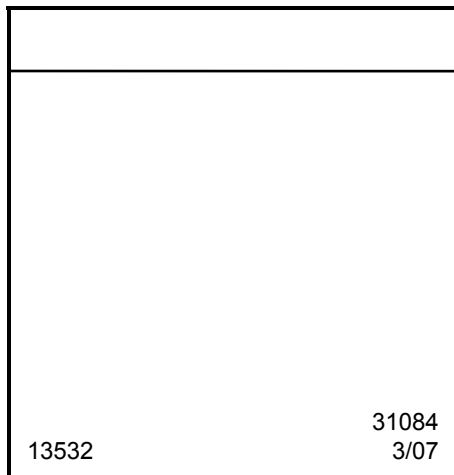


DiaSorin Inc.
1951 Northwestern Avenue
P.O. Box 285
Stillwater, MN 55082-0285



DiaSorin S.p.A.,
13040 Saluggia (VC) Italy

Phone: 651-439-9710
FAX: 651-351-5669



13532

31084
3/07

PRINTED IN U.S.A.

