

Enolasa neuroespecífica (CLIA)

Información para pedidos

Número de catálogo	Presentación
NSE111	2 × 50 pruebas
NSE112	2 × 100 pruebas
NSE113	2 × 30 pruebas

Uso Previsto

El ensayo de NSE serie CL es un inmunoensayo de quimioluminiscencia (CLIA) para la determinación cuantitativa de la enolasa neuroespecífica (NSE) en plasma o suero humano.

Resumen

La enolasa de enzima glucolítica tiene varias isoformas diméricas, incluidas $\alpha\alpha$, $\alpha\beta$, $\alpha\gamma$, $\beta\beta$ y $\gamma\gamma$. La α -subunidad de enolasa existe en varios tipos de tejidos de mamíferos, mientras que la β -subunidad principalmente existe en el corazón y la musculatura estriada. La γ -subunidad se encontró principalmente en neuronas, células neuro-endocrinas y algunos tumores, por lo que la γ -enolasa también se conoce como enolasa neuroespecífica (NSE).¹

La NSE se seleccionó como el primer marcador para controlar el tratamiento y la evolución de la enfermedad en el carcinoma broncopulmonar microcítico, de los que el 60–81% de los casos mostraban una elevada concentración de NSE.^{1 7} Para los pacientes que responden bien a la quimioterapia, los niveles de NSE elevados descienden rápidamente al final del primer ciclo. Al contrario, los pacientes que no responden bien al tratamiento, muestran constantemente un nivel elevado superior al intervalo de referencia.^{1 8} Durante la remisión, el valor de NSE sigue siendo normal. En los casos de recidiva, el valor de NSE aumenta. Para el carcinoma broncopulmonar no microcítico, CYFRA 21-1 es mejor que NSE.^{2 3 9}

Valores elevados de NSE sérica también se encontraron en casos de enfermedades no pulmonares, como neuroblastoma, seminoma y algunos tumores cerebrales.¹

El ensayo de NSE no se recomienda como procedimiento de análisis para detectar cáncer en la población general. Sin embargo, el ensayo de NSE se considera como una ayuda para el tratamiento de los pacientes de cáncer de pulmón.

Principio del ensayo

El ensayo de NSE serie CL es un ensayo sándwich de dos lugares para determinar el nivel de enolasa neuroespecífica.

En el primer paso, las micropartículas paramagnéticas de muestra recubiertas con anticuerpo monoclonal anti-NSE (ratón) y anticuerpo monoclonal anti-NSE conjugado a la fosfatasa alcalina (ratón) se añaden a una cubeta de reacción. Tras la incubación, la NSE de la muestra se une a las micropartículas recubiertas de anticuerpo anti-NSE y al anticuerpo anti-NSE conjugado a la fosfatasa alcalina para formar un complejo de sándwich. Las micropartículas se capturan magnéticamente y las sustancias sin unir se eliminan por lavado.

En el segundo paso, la solución de sustrato se añade a la cubeta de reacción. El anticuerpo anti-NSE conjugado a la fosfatasa alcalina (ratón) cataliza la solución en el inmunocomplejo que queda en las micropartículas. La reacción quimioluminiscente resultante se mide como unidades de luz relativas (RLU) con el fotomultiplicador integrado en el sistema.

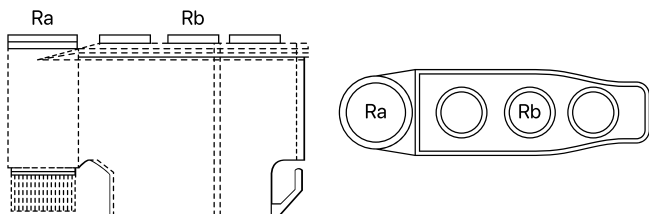
La cantidad de NSE presente en la muestra es proporcional a las unidades de luz relativas (RLU) generadas durante la reacción. La concentración de NSE puede calcularse con la curva de calibración.

Componentes del reactivo

Ra	Micropartículas paramagnéticas recubiertas con anticuerpo monoclonal anti-NSE (ratón) en el búfer TRIS con conservante.
Rb	Anticuerpo monoclonal anti-NSE conjugado a la fosfatasa alcalina (ratón) en el búfer MES con conservante.



La posición de cada componente reactivo se muestra en la siguiente figura (vista delantera por la izquierda y vista superior por la derecha):



Almacenamiento y estabilidad

El kit de reactivos de NSE (CLIA) es estable sin abrir hasta la fecha de caducidad indicada si se almacena a 2-8 °C.

El kit de reactivos de NSE (CLIA) puede almacenarse en el analizador y usarse hasta 28 días después de abierto si se mantiene a 2-8 °C.

Preparación del reactivo

Ra: Listo para su utilización

Rb: Listo para su utilización

Materiales necesarios pero no incluidos

Analizador para inmunoensayo de quimioluminiscencia serie CL de Mindray.

Cat.No.NSE211: Calibradores de NSE, 1x2,0 ml de cada calibrador C0, C1 y C2.

Cat.No.NSE212: Calibradores de NSE, 1x1,2 ml C0, 1x1,0 ml C1 y 1x1,0 ml C2.

Cat.No.NSE1311: Control NSE (L), 3x2,0 ml.

Cat.No.NSEH311: Control NSE (H), 3x2,0 ml.

Cat.No.NSE1312: Control NSE (L), 6x2,0 ml.

Cat.No.NSEH312: Control NSE (H), 6x2,0 ml.

Cat.No.WB411: Búfer de lavado, 1 x10 l.

Cat.No.CSS11: Solución de sustrato, 4 x115 ml. Cubeta de reacción.

Instrumento aplicable

Analizador para inmunoensayo de quimioluminiscencia serie CL de Mindray.

Preparación y obtención de muestras

Sólo se analizaron las muestras indicadas.

Se recomienda suero humano para este ensayo. Obtenga las muestras de sangre siguiendo las precauciones rutinarias para la venopunción. Siga las recomendaciones del fabricante del tubo de extracción sanguínea para la centrifugación. Centrifugue las muestras antes de que transcurra 1 hora. En las muestras mal centrifugadas o hemolizadas, la NSE de los eritrocitos y los trombocitos dará lugar a resultados elevados. Antes del análisis, compruebe que la materia celular y fibrina residual se han eliminado.

Para lograr unos resultados óptimos, inspeccione si hay burbujas en todas las muestras. Elimine las burbujas con una pipeta antes del análisis. Las muestras se deben mezclar bien después de descongelarse. Las muestras descongeladas deben centrifugarse antes de usarse. Si la muestra se cubrió con una capa lipídica tras la centrifugación, debe transferirse a un tubo limpio antes del ensayo. No transfiera la capa lipídica. Manipule con cuidado para evitar la contaminación cruzada.

Las muestras se deben analizar a la mayor brevedad después de su obtención. Si los ensayos no se finalizan en 6 horas, las muestras deberán cerrarse de forma estanca y refrigerarse a 2-8 °C. Si el ensayo se retrasa durante más de 24 horas, las muestras deben congelarse a -20 °C o una temperatura inferior. Evite ciclos repetidos de congelación y descongelación.

Nota: la estabilidad indicada con -20 °C solo es válida en las siguientes condiciones: las muestras se congelan primero a menos de -70 °C y seguidamente se almacenan a -20 °C.

Procedimiento del ensayo

Para obtener resultados óptimos con este ensayo, los operadores deben leer detenidamente el manual de funcionamiento del sistema para informarse bien sobre las instrucciones de funcionamiento, el control y la conservación de las muestras, las precauciones de seguridad y el mantenimiento. Prepare también todos los materiales necesarios para el ensayo.

Antes de introducir el kit de reactivos de NSE (CLIA) en el analizador por primera vez, el frasco de reactivo sin abrir debe volcarse suavemente al menos 30 veces para volver a suspender las micropartículas que se han asentado durante el envío o almacenamiento. Inspeccione visualmente el frasco para confirmar que las micropartículas están suspendidas. Si las micropartículas permanecen adheridas al frasco, continúe volcándolo hasta que se vuelvan a suspender por completo.



Si las micropartículas no se suspenden, se recomienda no usar ese frasco de reactivo. Póngase en contacto con el servicio de atención al cliente de Mindray. No vuelque los frascos de reactivo abiertos.

Para este ensayo, se necesitan 5 µl de muestra para un único análisis. Este volumen no incluye el volumen muerto del contenedor de la muestra. Si se realizan más análisis de la misma muestra, se necesita un volumen adicional. Los operadores deben consultar el manual de funcionamiento del sistema y el requisito específico del ensayo para determinar el volumen mínimo de muestra.

Calibración

La NSE (CLIA) serie CL se ha estandarizado de acuerdo con un ensayo de NSE comercial (CLIA).

La información específica de la curva de calibración principal del kit de reactivos de NSE (CLIA) se registra en el código de barras bidimensional adherido al paquete de reactivos. Se usa junto con calibradores de NSE para la calibración del lote de reactivos específico. Cuando se realiza la calibración, en primer lugar escanee la información de la curva de calibración principal del código de barras en el sistema y, a continuación, use los tres niveles de calibradores de NSE. Antes de realizar ningún ensayo de NSE, es necesario obtener la curva de calibración válida. Se recomienda repetir la calibración cada 4 semanas, cuando se use un nuevo lote de reactivos o cuando los controles de calidad no se ajusten al intervalo de valores especificado. Para obtener instrucciones detalladas de la calibración, consulte el manual de funcionamiento del sistema.

Control de calidad

Se recomienda que los controles de calidad se ejecuten cada 24 horas si las pruebas están en uso o después de cada calibración. La frecuencia del control de calidad se debe adaptar a los requisitos individuales de cada laboratorio. Los dos niveles de controles de calidad recomendados para este ensayo son: control NSE (L) y control NSE (H).

Los resultados de los controles de calidad deben ajustarse a los intervalos admisibles. Si un control no se ajusta a su intervalo especificado, los resultados del ensayo correspondiente no serán válidos y las muestras deberán volver a analizarse. Podría ser necesario repetir la calibración. Inspeccione el sistema de ensayo consultando el manual de funcionamiento del sistema.

Si los resultados de los controles de calidad siguen sin ajustarse al intervalo especificado, póngase en contacto con el servicio de atención al cliente de Mindray.

Cálculo

El analizador calcula automáticamente la concentración de analitos de cada muestra a partir de la lectura del código de barras con la curva de calibración principal, y según el ajuste de la curva obtenida por la función logística de 4 parámetros (4PLC) con las unidades de luz relativas (RLU) generadas desde los calibradores de NSE de los valores de concentración definidos. Los resultados se muestran en unidades de ng/ml.

Dilución

Las muestras con concentraciones NSE que sobrepasan el límite superior se pueden diluir con el diluyente de muestra Mindray. El diluyente recomendado es 1:2 (ya sea manualmente o de forma automática mediante el analizador). La concentración de la muestra diluida debe ser >10 ng/ml. Después de la dilución manual, multiplique el resultado por el factor de dilución. Después de que los analizadores realizan la dilución automática, el sistema automáticamente multiplica el resultado por el factor de dilución cuando calcula la concentración de la muestra.

Valores previstos

Un estudio en una cohorte de 531 individuos sanos en ha determinado el intervalo de referencia del ensayo de NSE serie CL.

Categoría	Número de muestras	Percentil 95°
Sano	531	16,5 ng/ml

Por las diferencias de parámetros geográficos, raza, sexo y edad, es muy recomendable que cada laboratorio establezca su propio intervalo de referencia.

Limitación

El límite superior de este ensayo es 370 ng/ml. Una muestra con una concentración de NSE inferior al límite superior puede determinarse en términos cuantitativos, mientras que la muestra con una concentración mayor al límite superior se registra como >370 ng/ml o diluir las muestras con el diluyente de muestras de Mindray.



La concentración de NSE en una muestra concreta, determinada con ensayos de distintos fabricantes, puede variar debido a las diferencias en los métodos de ensayo, la calibración y la especificidad de los reactivos. Los resultados de los ensayos se usarán junto con otros datos para tomar decisiones clínicas, como síntomas, resultados de otras pruebas, historia clínica.

Las muestras de los individuos expuestos a anticuerpos monoclonales de ratón podrían contener anticuerpos humanos antirratón (HAMA)(10). Estas muestras podrían dar valores erróneamente elevados o bajos con los kits de ensayo que usan anticuerpos monoclonales de ratón(11,12). Sin embargo, en este ensayo no se han observado interferencias obvias de HAMA.

Características de desempeño

Sensibilidad analítica / límite de detección

El kit de reactivos de NSE (CLIA) tiene una sensibilidad analítica de $\leq 0,05$ ng/ml. La sensibilidad analítica se define como la concentración más baja de analitos que puede diferenciarse de una muestra que no contiene analitos. Se define como la concentración de NSE con las dos desviaciones estándar superiores al valor de RLU medio calculado con 20 mediciones de una muestra sin analitos.

Sensibilidad funcional

El kit de reactivos de NSE (CLIA) tiene una sensibilidad funcional de $\leq 0,25$ ng/ml. La sensibilidad funcional se define como la concentración de NSE que puede medirse con un CV entre ensayos del 10%.

Intervalo posible

El intervalo de notificación se define por la sensibilidad analítica y el límite superior de la curva de calibración principal. El intervalo de notificación del kit de reactivos de NSE (CLIA) es 0,05-370 ng/ml (o el límite superior llega hasta los 740 ng/ml para las muestras diluidas de 2 dimensiones).

Especificidad

Concentraciones máximas de bilirrubina de 75 mg/dl, triglicéridos de 3000 mg/dl y proteína total de 10 g/dl no interfieren con el ensayo de NSE serie CL. Estas sustancias muestran interferencias inferiores al 10 % en las concentraciones indicadas.

No se observaron interferencias obvias por factor reumatoideo (hasta 1500 IU/ml) ni anticuerpo antinuclear.

El calibrador NSE CO de Mindray se enriqueció con otros marcadores tumorales, como alfa-fetoproteína (AFP), antígeno de cáncer 125 (CA125), antígeno de cáncer 15-3 (CA15-3), antígeno carbohidrato 19-9 (CA19-9), antígeno carcinoembrionario (CEA), antígeno de cáncer 72-4 (CA72-4), fragmento de citoqueratina 19 (CYFRA 21-1), y ferritina (FERR) con niveles específicos indicados en la siguiente tabla. No se observó reactividad cruzada obvia, ya que todos los resultados fueron $\leq 10,0$ ng/ml. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Marcador tumoral	Concentración de reactante cruzado	NSE observada (U/ml)	Criterios de aceptación
AFP	1000 ng/ml	0,00	NSE observada $\leq 10,0$ ng/ml
CA 125	1000 U/ml	0,00	
CA 15-3	100 U/ml	0,01	
CA 19-9	1000 U/ml	0,00	
CEA	1000 ng/ml	0,01	
CA72-4	300 U/ml	0,01	
CYFRA 21-1	500 ng/ml	0,02	
FERR	1000 ng/ml	0,00	

Efecto prozona

Para el ensayo de NSE serie CL, no se observó efecto prozona con las muestras analizadas que contenían hasta 120000 ng/ml de NSE.

Exactitud

Para confirmar la exactitud de este ensayo, se realizó la prueba de recuperación respecto al enriquecimiento de la muestra. La muestra con niveles altos de NSE se enriqueció en una muestra básica con un nivel bajo de NSE, con una proporción de volumen de 1:9. Los resultados mostraron que este ensayo tuvo una recuperación media de $100 \pm 10\%$. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Sin diluir NSE (ng/ml)	Enriquecida NSE (ng/ml)	Recuperación media
Baja: 8,50	24,95	107,15%
Alta: 161,46		



Precisión

El ensayo de NSE serie CL está diseñado para una precisión de $\leq 8\%$ (conforme al CV del dispositivo). La precisión se determinó siguiendo los estándares del protocolo EPS-A2(15) del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Se probaron dos niveles de controles de calidad en duplicado en dos series independientes por día, durante un total de 20 días, usando un único lote de reactivo y una curva de calibración. Los datos de precisión se resumen en la siguiente tabla.

Muestra	Valor medio de NSE (ng/ml)	Conforme al CV de la serie	CV interserial	Conforme al CV del dispositivo
1	11,59	3,11%	3,78%	5,67%
2	122,82	3,91%	4,02%	5,84%

Linealidad

Una muestra de NSE de alta concentración (aproximadamente 370 ng/ml) se mezcló con una muestra de baja concentración ($<0,05$ ng/ml) con diferentes proporciones, generando una serie de diluciones. La NSE de cada dilución se calculó usando el ensayo de NSE serie CL de Mindray. Se demostró que la linealidad se ajustaba al intervalo de 0.05 ng a 370 ng, y el coeficiente de correlación r es $\geq 0,990$. Los datos de linealidad se resumen en la siguiente tabla.

Concentración (ng/ml)	1	2	3	4	5	6
Valor previsto de NSE	0,02	79,55	137,43	211,98	280,14	382,41
Valor medido de NSE	0,02	76,50	152,98	229,45	305,93	382,41

Comparación de métodos

El ensayo de NSE serie CL de Mindray se comparó con un kit de diagnóstico disponible comercialmente en un estudio de correlación con unas 1377 muestras. Los datos estadísticos obtenidos por el modo de cálculo Deming se resumen en la siguiente tabla.

Intervalo de concentración (ng/ml)	Pendiente	Origen	Coefficiente de correlación
0,05~370	1,0004	2,2806	0,9851

Advertencias y precauciones

1. Exclusivo para uso diagnóstico in vitro.
2. Siga las reglas para manipular los reactivos de laboratorio y tome todas las precauciones de seguridad necesarias.
3. Debido a las diferencias de metodología y la especificidad de los anticuerpos, los resultados de los ensayos de la misma muestra pueden ser diferentes si se usan kits de reactivos de otros fabricantes en el sistema Mindray o si se usan kits de reactivos Mindray en otros sistemas.
4. No use kits de reactivos con la fecha de caducidad vencida.
5. No use reactivos mezclados de distintos lotes.
6. Mantenga el paquete de reactivos siempre en posición vertical para garantizar que no se pierdan micropartículas antes de su uso.
7. No se recomienda usar paquetes de reactivos abiertos más de 28 días.
8. La fiabilidad de los resultados del ensayo no se puede garantizar si no se siguen las instrucciones de este prospecto.
9. Los residuos de las reacciones y las muestras deben tratarse como riesgos biológicos potenciales. Las muestras y los residuos de las reacciones se manipularán conforme a las normativas y directrices locales.
10. La hoja de datos de seguridad de los materiales (MSDS) está disponible previa solicitud.



In Vitro Diagnostic medical device



Batch Code



European Conformity



Authorized representative in the European Community



Use-by date



Consult Instructions for use



Caution



Temperature Limit



Manufacturer



Catalogue number



This Way Up

Referencias

1. Lamerz R. NSE (Neuronen-spezifische Enolase), γ -Enolase. In: Thomas L (ed) Clinical Laboratory Diagnosis, TH-Books, Frankfurt, 1st. English Edition 1998: 979-981, 5. deutsche Auflage 1998:1000-1003.
2. Ebert W, Dienemann H, Fateh-Moghadam A, Scheulen M, Konietzko N, Schleich T, Bombardieri E. Cytokeratin 19 Fragment CYFRA 21-1 Compared with Carcinoembryonic Antigen, Squamous Cell Carcinoma Antigen and Neuron-Specific Enolase in Lung Cancer. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1994;32(3):189-199.
3. Vinolas N, Molina R, Galán MC, Casas F, Callejas MA, Filella X, et al. Tumor Markers in Response Monitoring and Prognosis of Non-Small Cell Lung Cancer: Preliminary Report. Anticancer Res 1998;18:631-634.



4. Kintzel K, Sonntag J, Strauß E, Obladen M. Neuron-Specific Enolase: Reference Values in Cord Blood. Clin Chem Lab Med 1998;36(4):245–247.
5. Butterworth RJ, Wassif WS, Sherwood RA, Gerges A, Poyser KH, Garthwaite J, et al. Serum Neuron-Specific Enolase, Carnosinase and Their Ratio in Acute Stroke. Stroke 1996;27:2064–2068.
6. Cunningham RT, Watt M, Winder J, McKinstry S, Lawson JT, Johnston CF, et al. Serum neurone-specific enolase as an indicator of stroke volume. Eur J Clin Invest 1996;26(4):298–303.
7. Ebert W, Hoppe M, Muley TH, Drings P. Monitoring of Therapy in Inoperable Lung Cancer Patients by Measurement of CYFRA 21-1, TPA-TP, CEA and NSE. Anticancer Res 1997(4B);17: 2875–2878.
8. Fizazi K, Cojean I, Pignon JP, Rixe O, Gatineau M, Hadeif S, et al. Normal Serum Neuron Specific Enolase (NSE) Value after the First Cycle of Chemotherapy. Cancer 1998;82(6):1049–1055.
9. Ebert W, Muley TH, Drings P. Does the Assessment of Serum Markers in Patients with Lung Cancer Aid in the Clinical Decision Making Process? Anticancer Res 1996;16(4B):2161–2168.
10. Boscatto L(m), Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988; 34:27–33.
11. Kricka L. Interferences in immunoassays - still a threat. Clin Chem 2000; 46: 1037–1038.
12. Bjerner J, et al. Immunometric assay interference: incidence and prevention. Clin Chem 2002; 48: 613–621.

© 2015 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd. Reservados todos los derechos.

Fabricante: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Dirección: Mindray Building, Keji 12th Road South, High-tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057 R.P. China

Dirección de correo electrónico: service@mindray.com

Sitio web: www.mindray.com

Tel.: +86-755-81888998

Fax.: +86-755-26582680

Representante de la CE: Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europa)

Dirección: Eiffeustraße 80, Hamburg 20537, Alemania

Tel.: 0049-40-2513175

Fax.: 0049-40-255726

