

REF



SYSTEM

0729982190

0729982500

300

cobas e 801

Deutsch

Systeminformation

Kurzname	ACN (Applikationscodes)
NSE	10073

Achtung

Der NSE Wert einer Patientenprobe kann in Abhängigkeit vom verwendeten Testverfahren unterschiedlich hoch gemessen werden. Der Laborbefund muss daher immer eine Angabe über die benutzte NSE-Bestimmungsmethode enthalten. NSE-Werte, die mit unterschiedlichen Testverfahren ermittelt wurden, können nicht miteinander verglichen werden und Ursache für medizinische Fehlinterpretationen sein. Erfolgt im Verlaufe eines Therapiemonitorings ein Wechsel des NSE-Bestimmungsverfahrens, so müssen die NSE-Werte beim Übergang durch Parallelmessungen mit beiden Methoden bestätigt werden.

Anwendungszweck

Immunologischer In-vitro-Test zur quantitativen Bestimmung der Neuron-spezifischen Enolase (NSE) in Humanserum. NSE-Messungen dienen der Therapie- und Verlaufskontrolle bei Patienten mit Tumorerkrankungen, insbesondere kleinzelligen Bronchialkarzinomen und Neuroblastomen.

Der ElektroChemiLumineszenz-ImmunoAssay "ECLIA" ist zur Durchführung an **cobas e 801** Immunoassay-Systemen vorgesehen.

Zusammenfassung

NSE ist ein zellspezifisches Isoenzym des glykolytischen Enzyms Enolase. NSE ist ein wertvoller Tumormarker bei der Verlaufskontrolle des kleinzelligen Bronchialkarzinoms (SCLC), insbesondere in Kombination mit dem Pro-Gastrin-Releasing-Peptid (ProGRP).^{1,2} Es wurde gezeigt, dass die NSE-Konzentration bei SCLC-Patienten mit der Tumormasse, der Anzahl Metastasen und dem Ansprechen auf die Therapie korreliert.

Erhöhte NSE-Konzentrationen wurden auch beim nicht kleinzelligen Bronchialkarzinom (NSCLC) nachgewiesen, der prädiktive und prognostische Wert dieses Markers bei NSCLC ist jedoch noch nicht endgültig geklärt.³ Erhöhte NSE-Konzentrationen im Serum werden bei allen Stufen von Neuroblastomen festgestellt. Die Inzidenz einer erhöhten Konzentration ist bei einer weit gestreuten Metastasierung höher und korreliert mit einer schlechten Prognose.³

Erhöhte NSE-Konzentrationen können bei neuroendokrinen Malignitäten auftreten, aber auch bei zahlreichen weiteren Tumorerkrankungen und klinischen Zuständen, wie Melanom, Seminom, Nierenzellkarzinom, Merkelzell-Karzinom, karzinoiden Tumoren, Dysgerminomen und unreifen Teratomen, malignem Phäochromozytom, zerebralen Gewebeschädigungen nach Schädeltrauma oder ischämischem Schlaganfall, intrazerebraler Blutung, inflammatorischen Gehirnerkrankungen und Creutzfeldt-Jakob-Krankheit.³

Testprinzip

Sandwichprinzip. Gesamtdauer des Tests: 18 Minuten.

- 1. Inkubation: 12 µL Probe, ein biotinylierter monoklonaler NSE-spezifischer Antikörper und ein mit Ruthenium-Komplex^{a)} markierter monoklonaler NSE-spezifischer Antikörper bilden einen Sandwich-Komplex.
- 2. Inkubation: Nach Zugabe von Streptavidin-beschichteten Mikropartikeln wird der Komplex über Biotin-Streptavidin Wechselwirkung an die Festphase gebunden.
- Das Reaktionsgemisch wird in die Messzelle überführt. Dort werden die Mikropartikel durch magnetische Wirkung auf der Oberfläche der Elektrode fixiert. Danach werden die ungebundenen Substanzen mit ProCell II M entfernt. Durch Anlegen einer Spannung wird die Chemilumineszenzemission induziert und mit dem Photomultiplier gemessen.
- Die Ergebnisse werden anhand einer Kalibrationskurve ermittelt. Diese wird durch eine 2-Punkt-Kalibration und eine über **cobas** link mitgelieferte Masterkurve gerätespezifisch generiert.

a) Tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II)-Komplex (Ru(bpy)₃²⁺)

Reagenzien – gebrauchsfertige Lösungen

Auf dem Etikett von **cobas e pack** ist NSE angegeben.

- M Streptavidin-beschichtete Mikropartikel, 1 Flasche, 14.1 mL: Streptavidin-beschichtete Mikropartikel, 0.72 mg/mL; Konservierungsmittel.
- R1 Anti-NSE-Ak~Biotin, 1 Flasche, 18.8 mL: Biotinylierter monoklonaler Anti-NSE-Antikörper 18E5 (Maus), 1.0 mg/L; Phosphatpuffer, 50 mmol/L, pH 7.2; Konservierungsmittel.
- R2 Anti-NSE-Ak~Ru(bpy)₃²⁺, 1 Flasche, 18.8 mL: Monoklonaler Anti-NSE-Antikörper 84B10 (Maus), markiert mit Ruthenium-Komplex, 1.0 mg/L; Phosphatpuffer, 50 mmol/L, pH 7.2; Konservierungsmittel.

Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

In-vitro-Diagnostikum.

Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Die Entsorgung aller Abfälle ist gemäß den lokalen Richtlinien durchzuführen.

Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage für berufsmäßige Benutzer erhältlich.

Schaumbildung bei allen Reagenzien und Probenarten (Proben, Kalibratoren und Kontrollen) vermeiden.

Reagenz-Handhabung

Die in der Packung befindlichen Reagenzien sind gebrauchsfertig und werden in **cobas e packs** geliefert.

Alle für die korrekte Anwendung benötigten Informationen sind über den **cobas** link abrufbar.

Lagerung und Haltbarkeit

Aufbewahrung bei 2-8 °C.

Nicht einfrieren.

Das **cobas e pack** **aufrecht stehend** aufbewahren, um eine komplette Verfügbarkeit der Mikropartikel während des automatischen Mischens vor Gebrauch zu gewährleisten.

Haltbarkeit:	
ungeöffnet bei 2-8 °C	bis zum angegebenen Verfallsdatum
im cobas e 801 Gerät	16 Wochen

Probenentnahme und Vorbereitung

Nur die nachfolgend aufgeführten Probenarten wurden getestet und können verwendet werden.

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen oder Röhrchen, die Trenngel enthalten.

Kein Plasma verwenden.

Blut innerhalb 1 Stunde zentrifugieren. In Erythrozyten und Thrombozyten enthaltene NSE führt bei Hämolyse und unsachgemäßer Zentrifugation (z.B. längere Standzeit vor Zentrifugation) zu erhöhten Ergebnissen.⁴

Als Bewertung gilt: Für Konzentrationen von 0.075-15 ng/mL beträgt die Abweichung ≤ 2.1 ng/mL. Für Konzentrationen von > 15 ng/mL beträgt die Abweichung ≤ 14 %.

Haltbarkeit: 2 Tage bei 20-25 °C, 5 Tage bei 2-8 °C, 3 Monate bei -20 °C (± 5 °C). Nur einmal einfrieren.

Hinweis: Die angegebene Haltbarkeit bei -20 °C ist nur nach folgendem Vorgehen gegeben: nicht mehr als 1 mL Probevolumen bei Temperaturen unter -70 °C tiefrieren und dann bei -20 °C lagern. Ein anderes Vorgehen beim Einfrieren führt zu tendenziell niedrigeren Ergebnissen.

Sicherstellen, dass Röhrchen, die Trenngel enthalten, vollständig gefüllt sind.

Die aufgeführten Probenarten wurden mit einer Auswahl an handelsüblichen Probenentnahmeröhrchen, die zum Zeitpunkt der Überprüfung erhältlich waren, getestet, d. h. nicht alle erhältlichen Röhrchen aller Hersteller wurden getestet. Probenentnahmesysteme verschiedener Hersteller können unterschiedliche Materialien enthalten, welche die Testergebnisse im Einzelfall beeinflussen können. Bei Verwendung von Primärröhrchen (Probenentnahmesysteme) sind die Anweisungen des Herstellers zu beachten.

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor der Durchführung des Tests zentrifugiert werden.

Keine hitzeinaktivierten Proben verwenden.

Keine mit Azid stabilisierten Proben und Kontrollen verwenden.

Es muss sichergestellt werden, dass die Temperatur der Proben und Kalibratoren zur Messung 20-25 °C beträgt.

Auf den Geräten befindliche Proben und Kalibratoren sollten wegen möglicher Verdunstungseffekte innerhalb von 2 Stunden vermessen werden.

Gelieferte Materialien

Siehe "Reagenzien - gebrauchsfertige Lösungen".

Zusätzlich benötigte Materialien

- [REF] 12133121122, NSE CalSet, 4 x 1.0 mL
- [REF] 11776452122, PreciControl Tumor Marker, für 4 x 3.0 mL oder
- [REF] 07360070190, PreciControl Lung Cancer, für 4 x 3.0 mL
- [REF] 03004864122, Diluent NSE, 4 x 3.0 mL
Probenverdünnungsmedium
- Allgemein übliche Laborausüstung
- **cobas e 801** Gerät

Zubehör für **cobas e 801** Geräte:

- [REF] 06908799190, ProCell II M, 2 x 2 L Systemlösung
- [REF] 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L Messzellen-Reinigungslösung
- [REF] 07485409001, Reservoir Cups, 8 Gefäße zur Versorgung von ProCell II M und CleanCell M
- [REF] 06908853190, PreClean II M, 2 x 2 L Waschlösung
- [REF] 05694302001, Assay Tip/Assay Cup Tray, Stapel mit 6 x 6 Magazinen mit jeweils 105 Pipettenspitzen und 105 Probengefäßen, 3 Abfallbeutel
- [REF] 07485425001, Liquid Flow Cleaning Cup, 2 Adaptergefäße zur Versorgung mit ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean für Liquid Flow Cleaning Detection Unit
- [REF] 07485433001, PreWash Liquid Flow Cleaning Cup, 1 Adaptergefäß zur Versorgung mit ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean für Liquid Flow Cleaning PreWash Unit
- [REF] 11298500316, ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean, 5 x 100 mL System-Reinigungslösung

Testdurchführung

Um eine einwandfreie Funktion des Tests sicherzustellen, sind die gerätespezifischen Anweisungen zu befolgen. Gerätespezifische Testanweisungen sind im entsprechenden Bedienungshandbuch zu finden.

Das Aufmischen der Mikropartikel vor Gebrauch erfolgt automatisch.

Das kühl (bei 2-8 °C) gelagerte **cobas e** pack in den Reagenz Manager einsetzen. Schaumbildung vermeiden. Das Gerät reguliert die Temperatur der Reagenzien und das Öffnen und Schließen des **cobas e** packs selbsttätig.

Kalibration

Rückführbarkeit: Diese Methode wurde an der Enzymun-Test NSE Methode standardisiert.

Die vorgegebene Masterkurve wird durch den Einsatz des entsprechenden CalSets an das Gerät angepasst.

Kalibrationsfrequenz: Eine Kalibration muss einmal pro Charge mit frischem Reagenz erfolgen (maximal 24 Stunden nachdem das **cobas e** pack auf dem Gerät registriert wurde).

Das Kalibrationsintervall kann verlängert werden, wenn das Labor eine akzeptable Verifizierung der Kalibrierung vorweisen kann.

Erneute Kalibration wird empfohlen:

- nach 12 Wochen bei Einsatz der gleichen Reagenzcharge
- nach 28 Tagen (bei Einsatz des gleichen **cobas e** packs auf dem Gerät)
- bei Bedarf: z. B. Qualitätskontrolle außerhalb des definierten Bereichs

Qualitätskontrolle

Zur Qualitätskontrolle sind PreciControl Lung Cancer oder PreciControl Tumor Marker einzusetzen.

Zusätzlich können andere geeignete Kontrollmaterialien verwendet werden.

Die Kontrollen der verschiedenen Konzentrationsbereiche sind in Einfachbestimmung bei Gebrauch des Tests mindestens 1 x pro 24 Stunden, 1 x pro **cobas e** pack und anlässlich einer Kalibration mitzuführen.

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der definierten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall festlegen, dass Werte außerhalb der festgelegten Grenzen liegen.

Falls erforderlich, ist die Messung der betroffenen Proben zu wiederholen.

Bei der Qualitätskontrolle die entsprechenden Gesetzesvorgaben und Richtlinien beachten.

Berechnung

Das Gerät berechnet automatisch die Analytkonzentration jeder Probe (wahlweise in ng/mL oder µg/L).

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen

Die Auswirkungen der folgenden endogenen Substanzen und pharmazeutischen Verbindungen auf die Testleistung wurden überprüft. Es wurde kein Einfluss auf die Ergebnisse durch Interferenzen bis zu den aufgeführten Konzentrationen festgestellt.

Endogene Substanzen

Komponenten	Getestete Konzentration
Bilirubin	≤ 1130 µmol/L bzw. ≤ 66 mg/dL
Intralipid	≤ 2000 mg/dL
Biotin	≤ 287 nmol/L bzw. ≤ 70 ng/mL
Rheumafaktoren	≤ 1200 IU/mL

Als Bewertung gilt: Für Konzentrationen von 0.075-15 ng/mL beträgt die Abweichung ≤ 1.5 ng/mL. Für Konzentrationen von > 15 ng/mL beträgt die Abweichung ≤ 10 %.

Hämolyse stört da Erythrozyten NSE enthalten.

Bei Patienten unter Therapie mit hohen Biotin-Dosen (> 5 mg/Tag) sollte die Probenentnahme mindestens 8 Stunden nach der letzten Applikation erfolgen.

Kein High-Dose Hook-Effekt bei NSE-Konzentrationen bis 15 µg/mL.

Pharmazeutische Substanzen

16 häufig verwendete Pharmaka wurden in vitro getestet. Es konnten keine Störungen festgestellt werden.

Außerdem wurden die folgenden speziellen Krebsmedikamente getestet. Es konnten keine Störungen festgestellt werden.

Spezielle Krebsmedikamente

Medikament	Getestete Konzentrationen mg/L
Cyclophosphamid	≤ 150
Cisplatin	≤ 250
Etoposid	≤ 400
Doxorubicin	≤ 50
Vincristin	≤ 2500

In seltenen Einzelfällen können Störungen durch extrem hohe Titer von Antikörpern gegen Analyt-spezifische Antikörper, Streptavidin sowie Ruthenium auftreten. Diese Einflüsse werden durch ein geeignetes Test-Design minimiert.

Für diagnostische Zwecke sind die Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Patientenvorgeschichte, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Grenzen und Bereiche

Messbereich

0.075-300 ng/mL (definiert durch die Erfassungsgrenze (LoB) und das Maximum der Masterkurve). Werte unterhalb der Erfassungsgrenze werden als < 0.075 ng/mL angegeben. Werte oberhalb des Messbereichs werden als > 300 ng/mL angegeben oder verdünnt (2-fach) entsprechend bis 600 ng/mL.

Untere Messgrenzen

Erfassungsgrenze (LoB), Nachweisgrenze (LoD) und Bestimmungsgrenze (LoQ)

Erfassungsgrenze (LoB) = 0.075 ng/mL

Nachweisgrenze (LoD) = 0.15 ng/mL

Bestimmungsgrenze (LoQ) = 0.225 ng/mL

Die Erfassungsgrenze (LoB), die Nachweisgrenze (LoD) sowie die Bestimmungsgrenze (LoQ) wurden gemäß den Anforderungen laut EP17-A2 des CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) bestimmt.

Die Erfassungsgrenze entspricht dem 95. Perzentil aus $n \geq 60$ Messungen von analytischen Proben über mehrere unabhängige Messreihen. Die Erfassungsgrenze entspricht der Konzentration unterhalb der analytischen Proben mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % gefunden werden.

Die Nachweisgrenze (LoD) wird aus der Erfassungsgrenze (LoB) und der Standardabweichung niedrig konzentrierter Proben ermittelt. Die Nachweisgrenze (LoD) entspricht der niedrigsten nachweisbaren Analytkonzentration (Wert über der Erfassungsgrenze (LoB) mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 %).

Die Bestimmungsgrenze (LoQ) ist definiert als die niedrigste Analytmenge in einer Probe, die mit einem zulässigen Gesamtfehler (Zwischenpräzision) von $\leq 20\%$ reproduzierbar gemessen werden kann.

Gemäß den Anforderungen laut EP17-A2 des CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) wurde eine interne Studie durchgeführt. Für Erfassungsgrenze (LoB) und Nachweisgrenze (LoD) wurden folgende Werte errechnet:

Erfassungsgrenze (LoB) = 0.0241 ng/mL

Nachweisgrenze (LoD) = 0.0741 ng/mL

Für die Bestimmungsgrenze (LoQ) wurden ≥ 4 Humanserumproben über 5 Tage mit 5 Replikaten pro Tag auf 1 Gerät gemessen. Die Bestimmungsgrenze (LoQ) betrug 0.143 ng/mL mit einer Zwischenpräzision VK von $\leq 20\%$.

Verdünnung

Proben, mit NSE Konzentrationen oberhalb des Messbereichs, können mit Diluent NSE verdünnt werden. Die empfohlene Verdünnung ist 1:2. Die Konzentration der verdünnten Probe muss > 50 ng/mL betragen.

Ergebnisse nach manueller Verdünnung mit dem Verdünnungsfaktor multiplizieren.

Referenzwerte

Untersuchungen mit dem Elecsys NSE Test in 3 klinischen Zentren in Deutschland und Roche-intern ergaben für insgesamt 547 gesunde Probanden folgende Ergebnisse:

16.3 ng/mL (95. Perzentil)

15.7-17.0 ng/mL (95 % Vertrauensbereich)

Status: Elecsys NSE Multicenter Evaluierung; Studie Nr. B99P005, 7/2001.

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der zu erwartenden Werte für die eigene Patientengruppe überprüfen und gegebenenfalls eigene Bereiche ermitteln.

Spezifische Leistungsdaten

Nachstehend werden repräsentative Leistungsdaten auf dem Gerät aufgezeigt. Die Ergebnisse der einzelnen Labore können davon abweichen.

Präzision

Die Präzision wurde mit Elecsys Reagenzien, gepoolten Humanseren und Kontrollen gemäß einem Protokoll (EP05-A3) des CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) bestimmt: 2 Läufe pro Tag in Doppelbestimmung, jeweils über 21 Tage ($n = 84$). Es wurden folgende Ergebnisse erzielt:

cobas e 801 Gerät					
Probe	MW ng/mL	Wiederholpräzision		Zwischenpräzision	
		SD ng/mL	VK %	SD ng/mL	VK %
Humanserum 1	0.411	0.017	4.2	0.028	6.7
Humanserum 2	0.471	0.015	3.1	0.029	6.2
Humanserum 3	20.4	0.187	0.9	0.275	1.3
Humanserum 4	194	2.43	1.3	3.14	1.6
Humanserum 5	288	3.41	1.2	4.12	1.4
PC ^{b)} Tumor Marker1	12.1	0.160	1.3	0.176	1.5
PC Tumor Marker2	95.6	0.931	1.0	1.35	1.4
PC Lung Cancer1	12.8	0.139	1.1	0.182	1.4
PC Lung Cancer2	103	1.25	1.2	1.56	1.5

b) PC = PreciControl

Methodenvergleich

Ein Vergleich des Elecsys NSE Tests, [REF](#) 07299982190 (cobas e 801 Gerät; y) mit dem Elecsys NSE Test, [REF](#) 12133113122 (cobas e 601 Gerät; x) ergab folgende Korrelationen (ng/mL):

Anzahl gemessener Serumproben: 197

Passing/Bablok⁵

$y = 0.933x - 0.125$

$\tau = 0.978$

Lineare Regression

$y = 0.966x - 0.874$

$r = 0.999$

Die Probenkonzentrationen lagen zwischen 0.685 und 279 ng/mL.

Spezifität (analytisch)

Die im Elecsys NSE Test verwendeten monoklonalen Antikörper 18E5 und 84B10 sind spezifisch gegen die γ -Untereinheit der Enolase gerichtet.

Literatur

- Molina R, Filella X, Augé JM. ProGRP: A New Biomarker for Small Cell Lung Cancer. *EJCMO* 2009;1:25-32.
- Molina R, Marrades RM, Auge JM, et. al. Assessment of a Combined Panel of Six Serum Tumor Markers for Lung Cancer, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2016;193(4):428-437.
- Isgro MA, Bottoni P, Scattena R. Neuron-Specific Enolase as a Biomarker: Biochemical and Clinical Aspects. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 2015;867:125-43.
- Schneider J. Tumor markers in detection of lung cancer. *Adv Clin Chem* 2006;42:1-41.
- Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988 Nov;26(11):783-790.

Weitergehende Informationen siehe Bedienungshandbuch des jeweiligen Gerätes, gerätespezifische Applikationsblätter, Produktinformationen und Methodenblätter aller erforderlichen Komponenten (falls im Land verfügbar).

Um die Grenze zwischen dem ganzzahligen Teil und dem gebrochenen Teil einer Zahl anzugeben, wird in diesem Methodenblatt immer ein Punkt als Dezimaltrennzeichen verwendet. Tausendertrennzeichen werden nicht verwendet.

Symbole

In Erweiterung zur ISO 15223-1 werden von Roche Diagnostics folgende Symbole und Zeichen verwendet (für USA: Definition der verwendeten Symbole, siehe <https://usdiagnostics.roche.com>):

CONTENT

Inhalt der Packung

SYSTEM

Geräte, auf denen die Reagenzien verwendet werden können

REAGENT

Reagenz

Elecsys NSE

cobas®

CALIBRATOR

Kalibrator



Volumen nach Rekonstitution oder Mischen

GTIN

Globale Artikelnummer GTIN

Ergänzungen, Streichungen oder Änderungen sind durch eine Markierung am Rand gekennzeichnet.

© 2016, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com

