

CL AIA-PACK® AFP TEST CUP

Pour le dosage quantitatif de l'alpha-fœtoprotéine (AFP) dans le sérum ou le plasma hépariné

INDICATION

La CL AIA-PACK AFP TEST CUP, un réactif à usage unique destiné EXCLUSIVEMENT AU DIAGNOSTIC IN VITRO par des professionnels de santé, sert à mesurer la quantité d'alpha-fœtoprotéine (AFP) dans le sérum humain ou le plasma hépariné sur les analyseurs automatisés AIA®-CL de Tosoh pour le diagnostic des cancers chez des sujets humains et pour la gestion clinique de la maladie.

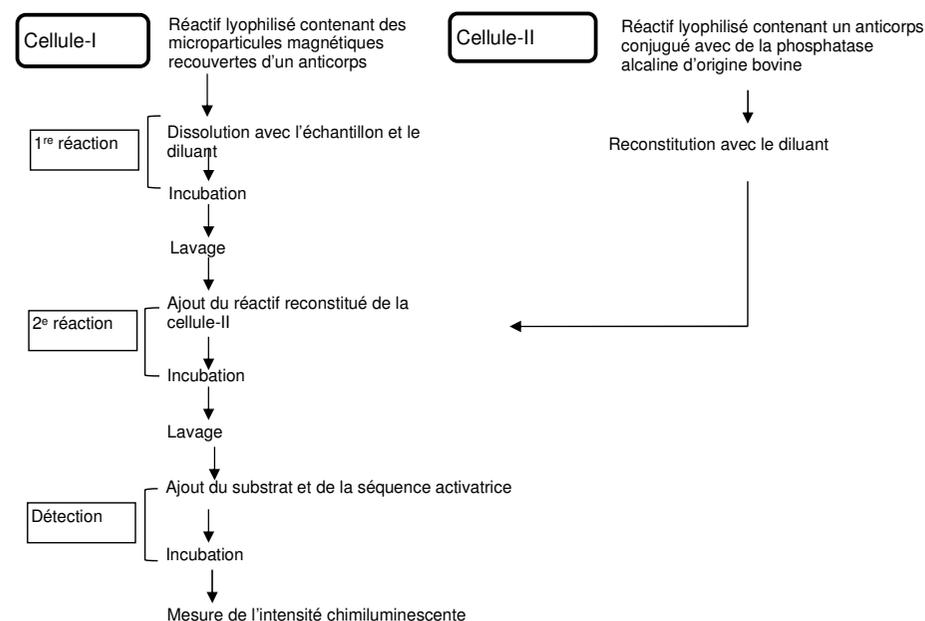
PRÉSENTATION DU TEST

L'alpha-fœtoprotéine (AFP) est une globuline fœtale synthétisée par le foie, le tube digestif et le sac vitellin durant la vie fœtale (1). Il s'agit d'une glycoprotéine d'un poids moléculaire de 70 000 daltons contenant 4,3 % de glucides, dont 20 % environ sont de l'acide sialique (2). Dans l'année qui suit la naissance, la concentration d'AFP d'un sérum normal diminue jusqu'à atteindre un taux à peine détectable (3). À l'origine, le test était utilisé dans le diagnostic de l'hépatome (4), dans la mesure où des augmentations des concentrations d'AFP ont d'abord été observées chez des patients souffrant d'un carcinome hépatocellulaire primaire. Des taux élevés d'AFP dans le sérum peuvent également être observés chez des patients atteints d'un carcinome testiculaire non séminomateux (5-7). Aucune augmentation des taux d'AFP dans le sérum n'a par contre été observée chez les patients souffrant d'un carcinome testiculaire d'origine purement séminomateuse. Dans les carcinomes testiculaires non séminomateux et hépatocellulaires primaires dans lesquels des augmentations de l'AFP ont été observées, les niveaux ont tendance à diminuer en cas de succès du traitement (8-10). De ce fait, il s'est avéré que le contrôle en série des niveaux d'AFP du sérum de ces patients facilitait le traitement clinique de la maladie. Quelques autres cancers courants, généralement associés à des métastases hépatiques, présentent une augmentation des niveaux d'AFP. Il s'agit notamment du carcinome de l'estomac, de la vésicule biliaire, de la prostate et des bronches. Une augmentation des niveaux d'AFP a également été signalée dans des maladies bénignes telles que l'ataxie télangiectasie, la tyrosinémie héréditaire, l'hépatite néonatale, l'atrésie des voies biliaires (11-14), des tumeurs d'autres tissus (15-17) ainsi que chez les femmes enceintes (18, 19).

PRINCIPE DU DOSAGE

Le dosage CL AIA-PACK AFP est un kit d'immunodosage enzymatique par chimiluminescence (CLEIA) en deux étapes. Le dosage est réalisé dans la CL AIA-PACK AFP TEST CUP. L'AFP présente dans l'échantillon testé est liée à un anticorps monoclonal de souris anti-AFP immobilisé sur les microparticules magnétiques dans une cellule (cellule-I). Après la première incubation, les microparticules magnétiques sont lavées afin d'éliminer le matériel non lié, puis un volume spécifique de l'anticorps monoclonal de souris anti-AFP marqué reconstitué dans une autre cellule (cellule-II) est introduit dans la cellule-I. Après la deuxième incubation, les microparticules magnétiques sont à nouveau lavées pour éliminer l'anticorps monoclonal non lié, puis incubées avec un Substrate chimiluminescent, DIFURAT®(*). Le nombre d'anticorps marqués qui se lient aux microparticules magnétiques est directement proportionnel à la concentration d'AFP dans l'échantillon testé. La concentration des échantillons est calculée à l'aide d'une courbe de calibration standard établie préalablement.

(*) DIFURAT : 3-(5-tert-butyl-4,4-diméthyl-2,6,7-trioxabicyclo[3.2.0]hept-1-yl) sel de phénylphosphate disodique



MATÉRIEL FOURNI

N° réf. 0029107

3 barquettes x 32 cupules de test CL AIA-PACK AFP TEST CUP

Cupules de test en plastique (cupule double, cellule-I et cellule-II) contenant ce qui suit :

- Cellule-I : Réactif lyophilisé contenant des microparticules magnétiques recouvertes d'anticorps monoclonaux de souris anti-AFP.
- Cellule-II : Réactif lyophilisé contenant un anticorps monoclonal de souris anti-AFP conjugué avec de la phosphatase alcaline d'origine bovine.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

Le matériel suivant est nécessaire pour procéder à l'analyse de l'AFP à l'aide de la CL AIA-PACK AFP TEST CUP (n° réf. 0029107) sur les analyseurs AIA-CL de Tosoh. Il peut être commandé séparément auprès de Tosoh.

Matériel	N° réf.
AIA-CL2400 ST	0023650
AIA-CL2400 LA	0023651
AIA-CL1200 ST	0024130
AIA-CL1200 LA	0024131
AIA-CL300	0024450
CL AIA-PACK SUBSTRATE SET (pour 50 ml)	0029701
CL AIA-PACK SUBSTRATE/CL AIA-PACK ENHANCER	
CL AIA-PACK SUBSTRATE SET (pour 100 ml)	0029702

CL AIA-PACK SUBSTRATE/CL AIA-PACK ENHANCER	
CL AIA-PACK SUBSTRATE SET (CUPS)	0029709
CL AIA-PACK SUBSTRATE/CL AIA-PACK ENHANCER	
CL AIA-PACK AFP ADJUSTER SET	0029207
CL AIA-PACK AFP ADJUSTER (1) 10 ng/ml (environ)	
CL AIA-PACK AFP ADJUSTER (2) 500 ng/ml (environ)	
CL AIA-PACK SAMPLE DILUTING REAGENT B	0029402
CL AIA-PACK WASH CONCENTRATE	0029703
CL AIA-PACK DILUENT CONCENTRATE (100 ml : pour la dilution automatique)	0029704
CL AIA-PACK DILUENT CONCENTRATE (60 ml : pour la dilution manuelle)	0029708
GODETS DE PRÉLÈVEMENT	0018581
CL AIA-PACK DETECTOR STANDARDIZATION CUP	0029705
EMBOUS DE PIPETTE	0019215
JEU DE PLAQUES D'EMBOUS (pour l'AIA-CL2400 et l'AIA-CL1200)	0023709
TIP RACK SET (AIA-CL300)	0023306

Utilisez uniquement le matériel Tosoh. N'utilisez pas du matériel obtenu ailleurs dans la mesure où les performances du dosage reposent exclusivement sur le matériel Tosoh.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- Le présent mode d'emploi doit être combiné au mode d'emploi des analyseurs AIA-CL de Tosoh utilisés.
- La CL AIA-PACK AFP TEST CUP est uniquement destinée au diagnostic in vitro.
- Avant toute utilisation, contrôlez l'emballage et l'extérieur du sachet en aluminium afin de vérifier qu'ils ne sont pas endommagés. Si des dommages sont visibles, contactez votre représentant Tosoh local.
- Ne mélangez pas des cupules de test de lots différents ou pour des analytes différents sur un même plateau.
- Le CL AIA-PACK SUBSTRATE SET, le CL AIA-PACK WASH CONCENTRATE et le CL AIA-PACK DILUENT CONCENTRATE contiennent de l'azide de sodium, qui est susceptible de réagir avec les tuyauteries en plomb ou en cuivre pour former des azotures potentiellement explosifs. Lors de l'élimination de ces réactifs, prenez soin de toujours laver à grande eau pour éviter toute accumulation d'azide.
- Aucune substance d'origine humaine n'est utilisée dans la préparation de ce produit. Cependant, dans la mesure où des prélèvements humains sont utilisés comme échantillons et où d'autres produits de contrôle qualité du laboratoire sont susceptibles d'être fabriqués à partir de matériel d'origine humaine, veuillez respecter les procédures de sécurité standard du laboratoire lors de la manipulation de l'ensemble des produits, échantillons et contrôles.
- N'utilisez pas le matériel au-delà de la date d'expiration.
- Afin de garantir l'élimination des déchets en toute sécurité, il est recommandé à chaque laboratoire de se conformer à ses propres procédures, de même qu'aux réglementations locales, régionales et nationales.
- Veillez placer le CL AIA-PACK SUBSTRATE SET sur l'instrument dans un environnement propre. Laissez les flacons en place jusqu'à ce qu'ils soient remplacés par de nouveaux. Toute contamination par du sang, des liquides corporels, de la poussière, du métal ou des micro-organismes peut entraîner des résultats erronés en raison de la dégradation du Substrate.
- Lors du remplacement du CL AIA-PACK SUBSTRATE SET par un nouveau, éliminez à la fois les anciens flacons et la solution restante. Ne mélangez pas la solution restante avec une nouvelle solution, même si elles appartiennent au même lot.

- Tosoh recommande d'utiliser un nouveau sachet de cupules de test pour le réglage de la courbe de référence.
- N'enregistrez pas les échantillons humains dont les contrôles sont en dehors de l'intervalle.
- Tout incident grave lié au dispositif doit être signalé au fabricant et à l'autorité de réglementation (autorités compétentes de l'UE, par exemple) du pays dans lequel réside l'utilisateur et/ou le patient.
- Manipulez les cupules avec soin et n'utilisez pas des cupules qui sont tombées, car leur utilisation pourrait engendrer des résultats erronés.

CONSERVATION ET STABILITÉ

Le matériel non ouvert reste stable jusqu'à la date d'expiration figurant sur l'étiquette lorsqu'il est conservé à la température indiquée.

Matériel	N° réf.
2-8 °C :	
CL AIA-PACK AFP TEST CUP	0029107
CL AIA-PACK AFP ADJUSTER SET	0029207
CL AIA-PACK SAMPLE DILUTING REAGENT B	0029402
CL AIA-PACK SUBSTRATE SET (pour 50 ml)	0029701
CL AIA-PACK SUBSTRATE SET (pour 100 ml)	0029702
CL AIA-PACK SUBSTRATE SET (CUPS)	0029709
CL AIA-PACK WASH CONCENTRATE	0029703
CL AIA-PACK DILUENT CONCENTRATE (100 ml : pour la dilution automatique)	0029704
CL AIA-PACK DILUENT CONCENTRATE (60 ml : pour la dilution manuelle)	0029708
1-30 °C :	
CL AIA-PACK DETECTOR STANDARDIZATION CUP	0029705

- Une fois le sachet en aluminium ouvert, la CL AIA-PACK AFP TEST CUP peut être laissée dans le Tray Sorter des cupules de test des analyseurs AIA-CL de Tosoh (à une température de 2-15 °C) ou être conservée dans un réfrigérateur pendant 60 jours maximum. Si vous laissez la CL AIA-PACK AFP TEST CUP à 18-25 °C, elle devra être utilisée dans les 10 jours (10 x 24 heures). En cas de stockage au réfrigérateur à 2-8 °C pendant la nuit, les cupules de test peuvent être utilisées pendant 30 jours au maximum (30 cycles de 8 heures à 18-25 °C et 16 heures au réfrigérateur).
- Une fois le sachet en aluminium ouvert, le CL AIA-PACK AFP ADJUSTER SET peut être laissé dans le Tray Sorter des cupules de test des analyseurs AIA-CL de Tosoh (à une température de 2-15 °C) pendant 180 jours maximum. Après ouverture du sachet en aluminium, si la barquette ou les rangées restantes du CL AIA-PACK AFP ADJUSTER SET sont conservées au réfrigérateur à 2-8 °C, le produit restera stable jusqu'à la date d'expiration. Si vous laissez le CL AIA-PACK AFP ADJUSTER SET à 18-25 °C, les cupules devront être utilisées dans les 24 heures.
- Une fois le sachet en aluminium ouvert, le CL AIA-PACK SAMPLE DILUTING REAGENT B peut être laissé dans le Tray Sorter des cupules de test des analyseurs AIA-CL de Tosoh (à une température de 2-15 °C) pendant 180 jours maximum. Si vous laissez le CL AIA-PACK SAMPLE DILUTING REAGENT B à 18-25 °C, les cupules devront être utilisées dans les 10 jours (10 x 24 heures). En cas de stockage au réfrigérateur à 2-8 °C pendant la nuit, les cupules peuvent être utilisées pendant 30 jours au maximum (30 cycles de 8 heures à 18-25 °C et 16 heures au réfrigérateur).
- Après ouverture des flacons, le CL AIA-PACK SUBSTRATE SET (pour 50 ml) peut être laissé dans les analyseurs AIA-CL de Tosoh (à une température de 2-15 °C) pendant 60 jours maximum.
- Après ouverture du sachet en aluminium, les cupules non utilisées de CL AIA-PACK SUBSTRATE SET restent stables jusqu'à la date d'expiration pour autant qu'elles soient conservées au

réfrigérateur à une température de 2-8 °C. Si vous laissez les cupules de CL AIA-PACK SUBSTRATE SET à 18-25 °C, vous devez les utiliser dans les 3 jours.

- Après ouverture, le CL AIA-PACK WASH CONCENTRATE et le CL AIA-PACK DILUENT CONCENTRATE (100 ml par flacon / n° réf. 0029704) peuvent être laissés dans les analyseurs AIA-CL de Tosoh (à une température de 18-25 °C) pendant 30 jours maximum.
- La solution de lavage obtenue par dilution manuelle et le diluant resteront stables pendant 30 jours à une température de 18 à 25 °C.
- Les réactifs ne peuvent pas être utilisés au-delà de leur date d'expiration, même s'ils sont stockés comme indiqué ci-dessus.

COLLECTE ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

1. Du sérum ou du plasma hépariné est requis pour le dosage. Les plasmas avec citrates ou EDTA NE DOIVENT PAS ÊTRE UTILISÉS.
2. Lorsque du sérum est utilisé, un prélèvement aseptique de sang veineux est effectué sans additifs. Conservez-le à 18-25 °C jusqu'à la formation d'un caillot (en général 15-45 minutes), puis centrifugez-le pour obtenir l'échantillon de sérum requis pour le dosage.
3. En cas d'utilisation de plasma hépariné, un prélèvement aseptique de sang veineux sera effectué à l'aide de l'additif indiqué. **Le prélèvement de sang doit être effectué conformément aux instructions du fabricant de tubes de prélèvement des échantillons, ainsi qu'aux instructions de cette notice d'utilisation, afin d'éviter de faux résultats.** Centrifugez et séparez le plasma des globules concentrés dès que possible.
4. Une coagulation ou une centrifugation inadéquate ou la présence de fibrine ou de particules dans l'échantillon peut engendrer un résultat erroné.
5. Les échantillons qui contiennent des inhibiteurs de la phosphatase alcaline peuvent donner lieu à des résultats erronés.
6. Vérifiez l'absence de bulles d'air et de mousse dans tous les échantillons. Éliminez les éventuelles bulles d'air avant le dosage.
7. Évitez d'utiliser différents types d'échantillons de façon interchangeable lors du contrôle en série d'un même patient. Chez certains patients, les concentrations mesurées peuvent varier légèrement d'un type d'échantillon à l'autre.
8. Les échantillons doivent être conservés à 2-8 °C pendant 7 jours au maximum avant l'analyse. Si l'analyse ne peut pas être réalisée dans les 7 jours, l'échantillon devra être congelé à une température de -20 °C ou inférieure pendant 60 jours maximum.
9. Évitez les cycles répétés de congélation/décongélation. Les échantillons troubles ou contenant des particules doivent être centrifugés avant le test. Avant le dosage, amenez lentement les échantillons congelés à une température de 18-25 °C et mélangez-les doucement.
10. Le volume d'échantillon requis pour l'analyse est de 5 µl.

PROCÉDURE

Référez-vous au mode d'emploi de l'analyseur AIA-CL de Tosoh pour obtenir des instructions détaillées.

I. Préparation des réactifs

A. Cupule de test

La CL AIA-PACK AFP TEST CUP est prête à l'emploi.

B. Substrat

<Flacons>

1. Les flacons de CL AIA-PACK SUBSTRATE SET sont prêts à l'emploi.
2. Ouvrez les flacons de CL AIA-PACK SUBSTRATE SET et placez-les aux positions appropriées sur l'instrument conformément au manuel opérateur.

3. Lors du remplacement du CL AIA-PACK SUBSTRATE SET, remplacez simultanément le CL AIA-PACK SUBSTRATE et le CL AIA-PACK ENHANCER.

<Cupules>

1. Les cupules de CL AIA-PACK SUBSTRATE SET sont prêtes à l'emploi.
2. Prenez le nombre nécessaire de cupules dans la barquette et placez-les sur l'instrument conformément au manuel opérateur. Les cupules restantes sur la barquette doivent être conservées à 2-8 °C.

C. Solution de lavage

<Dilution automatique>

Décapsulez le flacon de CL AIA-PACK WASH CONCENTRATE et placez-le à la position adéquate sur l'instrument. Le CL AIA-PACK WASH CONCENTRATE est dilué automatiquement par l'instrument afin de préparer la solution de lavage.

<Dilution manuelle>

Ajoutez tout le contenu d'un flacon de CL AIA-PACK WASH CONCENTRATE dans environ 2,0 l d'eau de qualité réactif de laboratoire clinique, ajustez le volume final pour obtenir 3,0 l et mélangez bien.

D. Diluant

<Dilution automatique>

1. Utilisez le CL AIA-PACK DILUENT CONCENTRATE (100 ml par flacon / n° réf. 0029704).
2. Retirez le bouchon du flacon et placez ce dernier à l'endroit approprié sur l'instrument. Le CL AIA-PACK DILUENT CONCENTRATE est dilué automatiquement par l'instrument afin de préparer le Diluant.

<Dilution manuelle>

1. Utilisez le CL AIA-PACK DILUENT CONCENTRATE (60 ml par flacon / n° réf. 0029708).
2. Ajoutez tout le contenu d'un flacon de CL AIA-PACK DILUENT CONCENTRATE (60 ml) dans environ 2,0 l d'eau de qualité réactif de laboratoire clinique, ajustez le volume final pour obtenir 3,0 l et mélangez bien.

II. Procédure de calibration

A. Courbe de calibration

La courbe de calibration à utiliser dans le cadre du dosage CL AIA-PACK AFP a été uniformisée par rapport à la 1^{re} norme internationale AFP 72/225 de l'OMS.

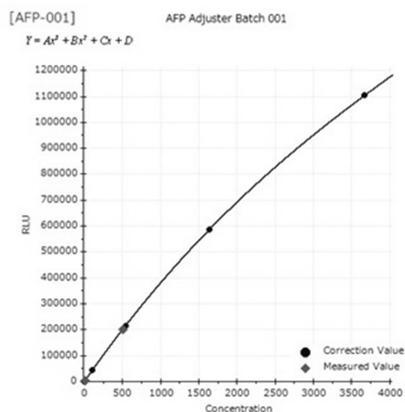
Il est possible d'obtenir des informations au sujet de la courbe de référence en scannant le code QR qui figure sur l'étiquette de la boîte de la CL AIA-PACK AFP TEST CUP pour chaque lot. Les analyseurs AIA-CL de Tosoh établissent la courbe de calibration en lisant le code QR et en mesurant le CL AIA-PACK AFP ADJUSTER SET.

La courbe de calibration adaptée de la CL AIA-PACK AFP TEST CUP reste stable pendant 90 jours maximum. Dès lors, la courbe doit être réajustée à l'aide du CL AIA-PACK AFP ADJUSTER SET avant d'arriver à expiration. La stabilité de la calibration est contrôlée par des tests de contrôle de la qualité et dépend de la manipulation correcte du réactif et de l'entretien de l'analyseur AIA-CL de Tosoh conformément aux instructions du fabricant. Un réajustement plus fréquent de la courbe de référence peut s'avérer nécessaire si les contrôles se situent en dehors de l'intervalle défini pour ce dosage ou si certaines procédures d'entretien sont effectuées (p. ex. réglage de la température, modifications du mécanisme d'échantillonnage, entretien de la sonde de lavage ou réglage ou changement de la lampe du détecteur).

Le réajustement de la courbe de référence à l'aide du CL AIA-PACK AFP ADJUSTER SET doit être réalisé pour chaque module de dosage de l'AIA-CL2400.

Pour plus d'informations sur le fonctionnement de l'instrument, veuillez consulter le mode d'emploi de l'analyseur AIA-CL de Tosoh.

Un exemple de courbe de calibration des échantillons de l'AIA-CL2400 est présenté ci-après et montre l'algorithme utilisé pour le calcul des résultats.



B. Procédure de calibration

1. Référez-vous au mode d'emploi de l'analyseur AIA-CL de Tosoh pour obtenir des instructions sur la procédure.
2. Placez une quantité suffisante de CL AIA-PACK AFP TEST CUP et de CL AIA-PACK AFP ADJUSTER SET sur l'instrument.
3. Lors de l'utilisation d'un nouveau lot de cupules de test, scannez le code QR imprimé sur l'étiquette de la boîte afin d'enregistrer la courbe de référence et le numéro de lot des cupules de test dans les analyseurs AIA-CL de Tosoh.
4. Lors de l'utilisation d'un nouveau jeu d'ajustement, scannez le code QR imprimé sur l'étiquette de la boîte afin d'enregistrer les valeurs de concentration et le numéro de lot du jeu d'ajustement dans les analyseurs AIA-CL de Tosoh.
5. Sélectionnez START. Le jeu d'ajustement est automatiquement reconstitué et mesuré en tant qu'échantillons sur les analyseurs AIA-CL de Tosoh.

C. Critères d'acceptabilité de la calibration

Les valeurs des dosages répétés doivent être comprises dans un intervalle de 10 %.

D. Révision et validation de la calibration

1. Examinez soigneusement la courbe de calibration en appliquant les critères.
2. Confirmez les valeurs de calibration, puis validez la calibration.
3. Tosoh vous recommande de doser le jeu d'ajusteurs à trois reprises. Sinon, les utilisateurs doivent valider la procédure de calibration conformément à leurs propres procédures opératoires standard.

Pour plus d'informations sur la calibration à l'aide d'une courbe de référence, veuillez consulter le mode d'emploi de l'analyseur AIA-CL de Tosoh.

III. Procédure de contrôle de la qualité

A. Contrôles disponibles dans le commerce

Des contrôles disponibles dans le commerce doivent être effectués au moins une fois par jour. Il est conseillé d'utiliser au moins deux niveaux de contrôle, un normal et un anormal. La politique du laboratoire pour ce type de dosage précise ce qui suit :

Matériel de contrôle : _____

Fréquence : _____

Le numéro de lot du matériel de contrôle, les limites acceptables et les mesures correctives à prendre lorsque les contrôles ne répondent pas aux critères du laboratoire sont disponibles dans un document de contrôle de la qualité distinct tenu par le laboratoire.

B. Procédure de contrôle de la qualité

1. Procédez au dosage des échantillons de contrôle de la qualité comme indiqué dans le mode d'emploi de votre analyseur. En outre, référez-vous au mode d'emploi de l'analyseur AIA-CL de Tosoh pour obtenir des instructions détaillées sur la définition et la modification des fichiers.
2. Le matériel de contrôle de la qualité à utiliser avec ce dosage est fonction de la politique du laboratoire.

IV. Traitement des échantillons

A. Préparation

En suivant les instructions du mode d'emploi de l'analyseur, placez les échantillons sur l'instrument comme il se doit. Vous pouvez doser des tubes primaires avec code à barres et des godets de prélèvement sur les analyseurs AIA-CL de Tosoh.

B. Procédure de dosage

1. Ajoutez un nombre suffisant de CL AIA-PACK AFP TEST CUP pour le nombre d'échantillons à doser.
2. Chargez les échantillons humains en suivant les instructions du mode d'emploi et procédez à l'analyse.

REMARQUES CONCERNANT LA PROCÉDURE

1. Pour les dosages de ligands effectués sur les analyseurs AIA-CL de Tosoh, le laboratoire doit utiliser de l'eau de qualité réactif telle que définie par la directive GP40-A4-AMD du CLSI. Pour plus d'informations, consultez le document GP40-A4-AMD du CLSI, Preparation and Testing of Reagent Water in the Clinical Laboratory ; Approved Guideline-Fourth Edition.
2. Si la concentration d'AFP d'un échantillon dépasse la limite supérieure de l'intervalle de mesure, à savoir 3 000 ng/ml, l'échantillon doit être dilué avec le CL AIA-PACK SAMPLE DILUTING REAGENT B et dosé à nouveau conformément à la procédure de dosage. La dilution recommandée pour les échantillons contenant plus de 3 000 ng/ml est de 10 ou 100 fois. Il est conseillé de diluer l'échantillon de manière à ce que l'échantillon dilué soit compris entre 0,2 et 3 000 ng/ml. Le facteur de dilution doit être enregistré dans le logiciel afin que le nouveau dosage de l'échantillon soit réalisé à l'aide du facteur de dilution défini. Les analyseurs AIA-CL de Tosoh indiqueront le résultat de l'échantillon avant dilution. Pour plus d'informations sur la dilution d'échantillons, référez-vous au mode d'emploi de l'analyseur AIA-CL de Tosoh.
3. Si les spécifications en matière de dosage de ce test ne sont pas encore dans le logiciel du système, vous devez les saisir sous le code test 014.

CALCUL DES RÉSULTATS

Les analyseurs AIA-CL de Tosoh effectuent automatiquement toutes les opérations de manipulation des échantillons et des réactifs. Les analyseurs AIA-CL de Tosoh mesurent l'intensité chimiluminescente et l'expriment en coups par seconde (cps) produits proportionnellement par la réaction, puis convertissent automatiquement ces cps en une concentration d'AFP en ng/ml.

Lorsqu'une dilution des échantillons est nécessaire, les analyseurs AIA-CL de Tosoh l'effectuent automatiquement et calculent les résultats si les facteurs de dilution ont été entrés dans le logiciel. Pour plus d'informations sur les dilutions programmées, consultez le mode d'emploi de l'analyseur AIA-CL de Tosoh.

ÉVALUATION DES RÉSULTATS

Contrôle de la qualité

Pour pouvoir contrôler et évaluer la précision des performances analytiques, il est conseillé de doser des échantillons de contrôle disponibles dans le commerce, conformément aux réglementations locales.

Les recommandations minimales concernant la fréquence des tests internes sont les suivantes :

Après calibration, au moins deux niveaux de contrôles internes sont effectués afin de valider la courbe de calibration.

Lorsque certaines opérations d'entretien sont exécutées (p. ex. réglage de la température, modifications du mécanisme d'échantillonnage, entretien de la sonde de lavage ou réglage ou changement de la lampe du détecteur), les trois niveaux de contrôles doivent être répétés.

Après l'entretien journalier, au moins deux niveaux de contrôles doivent être effectués afin de vérifier les performances générales des analyseurs AIA-CL de Tosoh.

Si une ou plusieurs valeur(s) des contrôles de la qualité se situent en dehors de l'intervalle acceptable, il convient d'examiner la validité de la courbe de calibration avant d'enregistrer les résultats du patient. L'utilisateur final est tenu de respecter les recommandations des autorités de réglementation locales, régionales et nationales, ainsi que les politiques du laboratoire.

LIMITES DE LA PROCÉDURE

1. Dans le cadre du diagnostic, les résultats obtenus à l'aide de ce dosage doivent être utilisés en parallèle avec d'autres données (par exemple symptômes, résultats d'autres tests, renseignements cliniques, traitement, etc.).
2. Dans le cadre de l'utilisation de la CL AIA-PACK AFP TEST CUP, la concentration maximale d'AFP mesurable dans les échantillons sans dilution est de 3 000 ng/ml, tandis que la concentration minimale mesurable dans les échantillons est de 0,2 ng/ml.
3. Bien que l'impact de l'hémolyse sur le dosage soit insignifiant, un échantillon hémolysé peut être le signe d'une mauvaise manipulation du prélèvement avant le dosage. Les résultats devront dès lors être interprétés avec prudence.
4. La lipémie a un impact insignifiant sur le dosage, sauf en cas de lipémie importante associée à des interférences spatiales.
5. Les échantillons prélevés sur des patients prenant des médicaments et/ou suivant un traitement médical peuvent donner des résultats erronés.
6. Les échantillons contenant de la fibrine peuvent donner de faux résultats. La fibrine doit dès lors être éliminée de l'échantillon avant le début du dosage.
7. Les échantillons provenant de patients ayant reçu des préparations à base d'anticorps monoclonaux de souris à des fins diagnostiques ou thérapeutiques sont susceptibles de contenir des anticorps humains anti-souris (HAMA). Ces échantillons peuvent donner de faux résultats.
8. Pour mieux comprendre les limites de cette procédure, veuillez vous reporter aux sections COLLECTE ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS, AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS, CONSERVATION ET STABILITÉ et REMARQUES CONCERNANT LA PROCÉDURE de ce mode d'emploi.

VALEURS ATTENDUES

Chaque laboratoire est tenu de déterminer un intervalle de référence correspondant aux caractéristiques de la population testée. De même que pour toutes les procédures de diagnostic, les résultats cliniques doivent être interprétés à la lumière des traitements concomitants administrés au patient (20).

I. Intervalles de référence

Les intervalles donnés ici ont été déterminés à l'aide d'échantillons de sérum prélevés chez 148 sujets asiatiques en bonne santé apparente et chez 170 sujets caucasiens en bonne santé apparente, respectivement.

Sujets asiatiques

Nombre d'échantillons (n) 148
Intervalle de référence $\leq 7,0$ ng/ml

Sujets caucasiens

Nombre d'échantillons (n) 170
Intervalle de référence $\leq 5,5$ ng/ml

II. Facteurs de conversion

Dans cette application, les concentrations d'AFP sont exprimées en unités de ng/ml. Les valeurs obtenues en ng/ml doivent être multipliées par 1,0 lors de leur conversion en $\mu\text{g/l}$.

CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES

PRÉCISION

- a. Récupération : Trois échantillons de sérum et trois échantillons de plasma hépariné ont été chargés avec trois taux différents d'AFP et dosés avant et après l'addition.

Échantillon	Valeur initiale (ng/ml)	AFP ajoutée (ng/ml)	Valeur attendue (ng/ml)	Valeur mesurée (ng/ml)	Pourcentage de récupération (%)
Sérum A1	15,5	218	234	222	94
	15,5	437	452	466	103
	15,5	873	889	853	96
Sérum B1	308	218	527	525	99
	308	437	745	731	97
	308	873	1 182	1 217	104
Sérum C1	3,59	218	222	208	93
	3,59	437	440	431	98
	3,59	873	877	870	99
Plasma A1	13,6	573	587	569	97
	13,6	1 146	1 160	1 144	99
	13,6	2 292	2 306	2 272	99
Plasma B1	289	573	862	860	100
	289	1 146	1 435	1 396	97
	289	2 292	2 581	2 483	96
Plasma C1	1,04	573	574	543	95
	1,04	1 146	1 147	1 131	99
	1,04	2 292	2 293	2 243	98

- b. Dilution : Trois échantillons de sérum et trois échantillons de plasma hépariné contenant des concentrations élevées d'AFP ont été dilués en série à l'aide du CL AIA-PACK SAMPLE DILUTING REAGENT B et dosés.

Échantillon	Facteur de dilution	Valeur attendue (ng/ml)	Valeur mesurée (ng/ml)	Pourcentage de récupération (%)
Sérum A2	aucun		1 975	
	10 fois	197	186	94
	100 fois	19,7	18,2	92

Echantillon	Facteur de dilution	Valeur attendue (ng/ml)	Valeur mesurée (ng/ml)	Pourcentage de récupération (%)
Sérum B2	aucun		1 914	
	10 fois	191	202	106
	100 fois	19,1	21,3	111
Sérum C2	aucun		1 745	
	10 fois	174	190	109
	100 fois	17,4	18,6	107
Plasma A2	aucun		1 974	
	10 fois	197	192	97
	100 fois	19,7	18,5	94
Plasma B2	aucun		1 864	
	10 fois	186	184	99
	100 fois	18,6	17,5	94
Plasma C2	aucun		2 335	
	10 fois	234	231	99
	100 fois	23,4	22,7	97

- c. Linéarité : La linéarité de la CL AIA-PACK AFP TEST CUP a été déterminée sur la base du protocole EP6-A du CLSI. La linéarité a été mesurée sur l'AIA-CL2400 et s'est avérée linéaire de 0,2 à 3 000 ng/ml.

PRÉCISION

- a. La répétabilité a été déterminée à l'aide de six contrôles pendant 20 cycles au total. Chaque contrôle a été analysé deux fois lors de chaque cycle. La moyenne des deux résultats obtenus pour chaque contrôle a été utilisée pour déterminer l'écart type (ET) cumulé, lequel a ensuite été utilisé pour calculer le coefficient de variation (CV).

Echantillon	Moyenne (ng/ml)	ET cumulé (ng/ml)	CV (%)
Sérum A3	15,9	0,498	3,1
Sérum B3	332	7,48	2,3
Sérum C3	1 991	50,7	2,5
Plasma A3	15,2	0,474	3,1
Plasma B3	314	8,32	2,6
Plasma C3	1 893	53,6	2,8

- b. La reproductibilité a été déterminée par le dosage répété de six contrôles au cours de 20 cycles distincts. Les moyennes de chaque cycle ont été utilisées pour calculer l'écart type (ET) cumulé et le coefficient de variation (CV).

Echantillon	Moyenne (ng/ml)	ET cumulé (ng/ml)	CV (%)
Sérum A3	15,9	0,597	3,8
Sérum B3	332	12,2	3,7
Sérum C3	1 991	68,1	3,4
Plasma A3	15,2	0,692	4,5
Plasma B3	314	13,9	4,4
Plasma C3	1 893	72,0	3,8

CORRÉLATION

La corrélation entre le sérum (x) et le plasma hépariné (y) sur le CL AIA-PACK AFP a été établie à l'aide de 115 échantillons humains.

Pente	0,980
Interception avec l'axe y	0,854
Coefficient de corrélation	0,999

Nombre d'échantillons	115
-----------------------	-----

SPÉCIFICITÉ

Les substances suivantes ont été testées afin de déterminer la réactivité croisée. La réactivité croisée (% mol) est le pourcentage du composé qui sera identifié en tant qu'AFP. Si ces composés sont présents dans l'échantillon à la même concentration que l'AFP, le résultat final est augmenté en fonction de ces pourcentages.

Composé	Concentration ajoutée	Réactivité croisée (% mol)
HCG	10 000 mUI/ml	< 0,01
PRL	200 ng/ml	< 0,01
hPL	500 ng/ml	< 0,01

SENSIBILITÉ

Limite de détection : La limite de détection pour la CL AIA-PACK AFP TEST CUP a été déterminée conformément à la directive EP17-A2 du CLSI. L'échantillon de contrôle a été mesuré lors de 60 dosages répétés. Les cinq échantillons de faible niveau ont été mesurés lors de 12 dosages répétés. En conséquence, la limite de détection de la CL AIA-PACK AFP TEST CUP a été évaluée à 0,078 ng/ml.

INTERFÉRENCE

Dans le cadre de cette étude, l'interférence est définie comme une récupération en dehors de la plage d'acceptabilité de 10 % par rapport à la concentration connue de l'échantillon après l'ajout des substances suivantes aux échantillons humains.

1. L'hémoglobine (jusqu'à 440 mg/dl), la bilirubine libre (jusqu'à 18 mg/dl) et la bilirubine conjuguée (jusqu'à 17 mg/dl) n'interfèrent pas avec le dosage.
2. La lipémie, telle qu'indiquée par la concentration de triglycérides (jusqu'à 1 600 mg/dl), n'interfère pas avec le dosage.
3. L'acide ascorbique (jusqu'à 20 mg/dl) n'interfère pas avec le dosage.
4. La protéine, telle qu'indiquée par la concentration d'albumine humaine (jusqu'à 5,0 g/dl), n'interfère pas avec le dosage.
5. L'héparine (jusqu'à 100 U/ml) n'interfère pas avec le dosage.

RÉFÉRENCES

1. Gitlin, D., et al., Synthesis of Alpha-Fetoprotein by Liver, Yolk Sac, and Gastrointestinal Tract of the Human Conceptus. *Cancer Res*, 32:979 (1972).
2. Ruoslahti, E., Seppala, M., Studies of Carcino-Fetal Proteins: Physical and Chemical Properties of Human Alpha-Fetoprotein. *Int J Cancer*, 7:218 (1971).
3. Masseyeff, R., et al., Évolution en fonction de l'âge du taux sérique physiologique de l'alpha-fœtoprotéine chez l'homme et le rat. (French) in: *Alpha-Feto-Protein* (Masseyeff, R., ed.) p.313. INSERM, Paris (1974).
4. Tatarinov, Y. S., Finding of an Embryospecific Alpha- Globulin in Blood Stream in Patient with Primary Hepatic Cancer (Russian). *Vopr Med Khim*;10:90 (1964).
5. Javadpour, N., et al., Human Chorionic Gonadotropin (HCG) and Alpha-Fetoprotein (AFP) in Sera and Tumor Cells of Patients with Testicular Seminoma. A Prospective Study. *Cancer*, 42:2768 (1978).
6. Lange, P. H., et al., Serum Alpha-Fetoprotein and Human Chorionic Gonadotropin in Patients with Seminoma. *J Urol*,124:472 (1980).
7. Jacobsen, G. K., Alpha-Fetoprotein (AFP) and Human Chorionic Gonadotropin (HCG) in Testicular Germ Cell Tumours. *Acta Path. Microbiol. Immunol Scand Sect A*, 91:183 (1983).

8. Anderson, T., et al., Testicular Germ-Cell Neoplasms: Recent Advances in Diagnosis and Therapy. Ann Int Med, 90:373 (1979).
9. Bosl, G. J., et al., Human Chorionic Gonadotropin and Alphafetoprotein in the Staging of Nonseminomatous Testicular Cancer. Cancer, 47:328 (1981).
10. Vogelzang, N. J., et al., Acute Changes of Alpha-Fetoprotein and Human Chorionic Gonadotropin during Induction Chemotherapy of Germ Cell Tumors. Cancer Res, 42:4855 (1982).
11. Waldmann, T. A., McIntire, K. R., Serum-Alpha-Fetoprotein Levels in Patients with Ataxia-Telangiectasia. Lancet, 2:1112 (1972).
12. Belanger, L., Tyrosinémie héréditaire et alpha-1-fœtoprotéine. II. Recherche tissulaire comparée de l'alpha-fœtoprotéine dans deux cas de tyrosinémie héréditaire. Considérations sur l'ontogenèse de la fœtoprotéine humaine (French). Pathol Biol, 21:457 (1973).
13. Kew, M. C., et al., Serum Alpha-Fetoprotein Levels in Acute Viral Hepatitis. Gut, 14:939 (1973).
14. Endo, Y., et al., Clinical Significance of Alpha-Fetoprotein in Hepatitis and Liver Cirrhosis. Ann N Y Acad Sci, 259:234 (1975).
15. van Nagell, J. R., et al., Biochemical Markers in the Plasma and Tumors of Patients with Gynecologic Malignancies. Cancer, 48:495 (1981).
16. Maeyama, M., et al., Serial Serum Determination on Alpha-Fetoprotein as a Marker of the Effect of Postoperative Chemotherapy in Ovarian Endodermal Sinus Tumor. Gynecol Oncol, 17:104 (1984).
17. Yasunami, R., et al., Primary Lung Cancer Producing Alpha-Fetoprotein: A Case Report. Cancer, 47:926 (1981).
18. Purves, L. R., Purves, M., Serum Alpha-Fetoprotein. VI. The Radio-Immunoassay Evidence for the Presence of AFP in the Serum of normal People and During Pregnancy. S Afr Med J, 46:1290 (1972).
19. Seppala, M., Ruoslahti, E., Alpha Fetoprotein: Physiology and Pathology During Pregnancy and Application to Antenatal Diagnosis. J Perinat Med, 1:104 (1973).
20. Young, D., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 3rd Edition, Washington, DC, American Association for Clinical Chemistry Press (1990).

« AIA », « AIA-PACK » et « DIFURAT » sont des marques déposées de Tosoh Corporation dans l'Union européenne, etc.

« QR Code » est une marque déposée de DENSO WAVE INCORPORATED au Japon, etc.

TOSOH BIOSCIENCE LIMITED

Lytchett House, 13 Freeland Park,
Wareham Road, Poole, Dorset, BH16 6FA, UK
Phone :+44 1527 592901
Fax :+44 1527 471680

UK	RP
----	----



TOSOH CORPORATION

3-8-2, Shiba-Koen, Minato-ku
TOKYO 105-8623 (JAPAN)
Tel.: +81 (0)3 5427 5181 Fax: +81 (0)3 5427 5220



TOSOH EUROPE N.V.

Transportstraat 4
B-3980 TESSENDERLO, BELGIUM
Tel.: +32 (0)13 66 88 30 Fax: +32 (0)13 66 47 49

