



CT-U.S.-Irma

KIP0429

For Informational/Research Purposes Only

Distributed By:



Immuno-Biological Laboratories, Inc. (IBL-America)

8201 Central Ave. NE, Suite P

Minneapolis, Minnesota 55432, USA

Phone: (888) 523-1246

Fax.: (763) 780-2988

Email: info@ibl-america.com

Web: www.ibl-america.com

For Informational/Research Purposes Only

LOT : 120914/2

Read entire protocol before use.

CT-U.S. - IRMA

I. INTENDED USE

Immunoradiometric assay kit for the in vitro quantitative measurement of human Calcitonin in serum.

II. GENERAL INFORMATION

- A. Proprietary name :** DIAsource CT-U.S. -IRMA Kit
- B. Catalog number :** KIP0429: 96 tests
- C. Manufactured by :** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

For technical assistance or ordering information contact :
Tel : +32 (0)10 84.99.11 Fax : +32 (0)10 84.99.91

III. CLINICAL BACKGROUND

Calcitonin(CT) is a 32 amino acid peptide hormone secreted by the para-follicular C-cells of the thyroid gland under serum calcium control. After acute administration this peptide acts as a potent hypocalcemic and hypophosphatemic hormone by increasing renal calcium clearance and reducing bone resorption. However its precise physiological role in bone metabolism is not yet fully understood.

Various forms of CT may be detected in blood samples, including a CT monomer, an oxidized monomer, a dimer, higher molecular weight forms, and possibly precursor of CT. The concentrations of these peptides vary with clinical status, renal function and tissular origin of CT (normal or ectopic production).

Medullary thyroid carcinoma (MTC) is a malignant tumor, developed from the C-cells, secreting calcitonin in large excess. This disease occurs either as a sporadic (80%) or a familial (20%) form, which is transmitted as an autosomal dominant gene or as a component of multiple endocrine neoplasia (IIb).

Moderate hypercalcitoninemia is also observed in pregnancy, pernicious anemia, renal failure and during the neonatal period. Preferably, monomeric form of CT is detected in this assay.


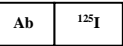
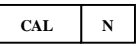


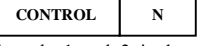
The measurement of CT by the present IRMA is used for :

- diagnosis of medullary thyroid carcinoma (MTC)
- follow up of malignant tumors, to check the success of surgery and to monitor for recurrence
- diagnosis of the preclinical cases of the familial forms of MTC (MEN II or Sipple syndrome) by the use of stimulation tests (calcium or pentagastrin)
- study of the pathophysiology of the calcium-phosphate and bone metabolism.

IV. PRINCIPLES OF THE METHOD

The DIASource Calcitonin-U.S. IRMA is an immunoradiometric assay based on coated tube separation. It uses monoclonal antibodies directed against distinct epitopes of human Calcitonin. The capture antibody is attached to the lower inner surface of a plastic tube. Calibrators and samples are dispensed into the tubes and bind to the capture antibody. The signal antibody (radiolabelled) is added immediately and after an incubation which allows the immunologic reaction, the tubes are emptied and washed to remove the excess unbound antibody. The radioactivity bound to the tubes is directly proportional to the initial antigen concentration in the calibrators and samples.

V. REAGENTS PROVIDED

Reagents	Quantity	Colour Code	Reconstitution
 Tubes coated with anti CT (monoclonal antibodies)	2 x 48	blue	Ready for use
 Anti-CT- ¹²⁵ I (monoclonal antibodies) in TRIS Buffer with bovine serum albumin, azide (< 0.1%) and inert red dye	1 vial 5.5 ml 720 kBq	red	Ready for use
 Calibrators 0-5 in Calcitonin free human serum with gentamycin and thymol (see exact values on vial labels)	6 vials lyophil.	yellow	Add 1 ml distilled water
 CT free human serum (to be used for samples dilution) with gentamycin and thymol	1 vial lyophil.	black	Add distilled water (see the volume on the label)
 Wash solution (TRIS-HCl)	1 vial 10 ml	brown	Dilute 70x with distilled water (use a magnetic stirrer).
 Controls 1 and 2 in human serum with gentamycin and thymol	2 vials lyophil.	silver	Add 1 ml distilled water

Note : 1. CT free human serum is to be used for samples dilution.
2. 1 pg of our reference preparation is equivalent to 0.19 μ IU 2nd IS 89/620.

VI. SUPPLIES NOT PROVIDED

The following material is required but not provided in the kit:

1. Distilled water
2. Pipettes for delivery of: 50 μ l, 200 μ l and 1 ml. (the use of accurate pipettes with disposable plastic tips is recommended)
3. Vortex mixer
4. Magnetic stirrer
5. 5 ml automatic syringe (Cornwall type) for washing
6. Aspiration system (optional).
7. Any gamma counter capable of measuring ¹²⁵I may be used (minimal yield 70%).

VII. REAGENT PREPARATION

- A. Calibrators :** Reconstitute the calibrators with 1 ml distilled water.
- B. Controls :** Reconstitute the controls with 1 ml distilled water.
- C. CT free serum :** Reconstitute the CT free serum with distilled water. (see the volume on the label)
- D. Working Wash solution :** Prepare an adequate volume of Working Wash solution by adding 69 volumes of distilled water to 1 volume of Wash Solution (70x). Use a magnetic stirrer to homogenize. Discard unused Working Wash solution at the end of the day.

VIII. STORAGE AND EXPIRATION DATING OF REAGENTS

- Before opening or reconstitution, all kits components are stable until the expiry date, indicated on the label, if kept at 2 to 8°C.
- After reconstitution, calibrators, controls and CT free serum should be frozen immediately after use and kept at -20°C for 3 months. Only one freeze thawing cycle is allowed, discard the calibrators, controls and CT free serum after the second use.
- Freshly prepared Working Wash solution should be used on the same day.
- After its first use, tracer is stable until expiry date, if kept in the original well closed vial at 2 to 8°C.
- Alterations in physical appearance of kit reagents may indicate instability or deterioration.

IX. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Serum samples are recommended for this assay.

- Do not use hemolyzed samples.
- Do not use lipemic samples.
- If a specimen is expected or known to have a concentration above the highest calibrator, it has to be diluted with the CT free serum to fall within the measuring interval.
- If samples are not assayed the same day as the blood collection, then it is advisable to freeze them until the assay.
- Samples can only be thawed once.
- For repeat testing, freeze them in aliquots and discard each sample after first thawing.

X. PROCEDURE

A. Handling notes

Do not use the kit or components beyond expiry date. Do not mix materials from different kit lots. Bring all the reagents to room temperature prior to use. Thoroughly mix all reagents and samples by gentle agitation or swirling. In order to avoid cross-contamination, use a clean disposable pipette tip for the addition of each reagent and sample. High precision pipettes or automated pipetting equipment will improve the precision. Respect the incubation times. Prepare a calibration curve for each run, do not use data from previous runs.

B. Procedure

1. Label coated tubes in duplicate for each calibrator, sample and control. For the determination of total counts, label 2 normal tubes
2. Homogenize calibrators, controls, specimens and dispense 200 μ l of each into the respective tubes.
3. Add 50 μ l of anti-CT-¹²⁵I (tracer) to all tubes, including the uncoated tubes for total counts.
4. Shake the tube rack gently by hand.
5. Incubate for 18 \pm 1 hours at 2-8°C.
6. Take the tubes for the total counts apart and aspirate the contents of the coated tubes. Be sure to remove all the liquid, remaining droplets will increase the background c.p.m..
7. Wash tubes twice with 2 ml Wash Solution and aspirate. Avoid foaming during the addition of the wash solution. For manual washing procedure first aspirate the foam layer and then the liquid. For automated wash cycles continuous aspiration is recommended. The precision is improved by aspirating the tubes a second time two minutes after emptying the last tube.
8. Count tubes in a gamma counter for 60 seconds.

XI. CALCULATION OF RESULTS

1. Calculate the mean of duplicate determinations.
2. On semi logarithmic or linear graph paper plot the c.p.m. (ordinate) for each calibrator against the corresponding concentration of CT (abscissa) and draw a calibration curve through the calibrator points, reject the obvious outliers.
3. Read the concentration for each control and sample by interpolation on the calibration curve. Computer assisted data reduction will simplify these calculations. If automatic result processing is to be used, a 4 parameter logistic function curve fitting is recommended.

XII. TYPICAL DATA

The following data are for illustration only and should never be used instead of the real time calibration curve.

CT-U.S.-IRMA		cpm	B/T x 100 (%)
Total count		306174	100
Calibrator	0 pg/ml	259	0.08
	8.2 pg/ml	1872	0.61
	17.0 pg/ml	4467	1.46
	44.8 pg/ml	11091	3.62
	154.0 pg/ml	39847	13.01
	674.0 pg/ml	148740	48.58

XIII. PERFORMANCE AND LIMITATIONS

A. Detection Limit

Twenty zero calibrators were assayed along with a set of other calibrators. The detection limit, defined as the apparent concentration two standard deviations above the average counts at zero binding, was 0.9 pg/ml.

B. Specificity

Some potentially interfering hormones have been tested in this assay. At concentrations up to 100 ng/ml, none of the following hormones showed significant interference :

- CGRP
- Salmon-calcitonin
- PDN 21
- Procalcitonin N terminal.

C. Precision

INTRA ASSAY				INTER ASSAY			
Serum	N	X ± S.D. (pg/ml)	CV %	Serum	N	X ± S.D. (pg/ml)	CV %
A	10	76.1 ± 2.1	2.7	A	10	26.9 ± 2.5	9.3
B	10	337.4 ± 6.5	1.9	B	10	128.8 ± 6.0	4.6

SD : Standard Deviation; CV: Coefficient of variation

D. Accuracy

RECOVERY TEST

Added Calcitonin (pg/ml)	CT Measured Concent. (pg/ml)	Recovery (%)
0		
6	6.1	101.7
15.5	16.0	103.2
48	48.5	101.0
142.5	138.7	97.3
500	517.7	103.5

DILUTION TEST

Dilution	Theoretical Concent. (pg/ml)	Measured Concent. (pg/ml)	Recovery (%)
1/1		396.0	-
1/2	198.0	193.6	97.8
1/4	99.0	92.3	93.2
1/8	49.5	49.3	99.6
1/16	24.8	23.6	95.4
1/32	12.4	12.1	97.8
1/64	6.2	6.4	103.4

E. Hook effect

A serum sample with a spiked concentration of 500.000 pg/ml of synthetic Calcitonin gives a signal above the highest calibrator concentration.

No Hook effect was observed on serum samples containing up to 16500 pg/mL of native Calcitonin.

It is recommended to dilute samples above 100 pg/mL with CT free human serum provided in the kit. Samples have to be sequentially diluted 1:10.

Healthy subjects, patients having medullary thyroid carcinoma or other tumors present different immunochemical forms of calcitonin.

The size of these forms may vary from type to type and may therefore respond differently in immunoassays and dilution tests.

XIV. LIMITATIONS

- Specimens from patients who have received preparations of mouse monoclonal antibodies for diagnosis or therapy may contain human anti-mouse antibodies (HAMA). Such specimens may show either falsely elevated or depressed values when tested with assay kits which employ mouse monoclonal antibodies.
- Heterophilic antibodies in human serum can react with reagent immunoglobulins, interfering with in vitro immunoassays. Patients routinely exposed to animals or animal serum products can be prone to this interference and anomalous values may be observed in case of the presence of heterophilic antibodies. Carefully evaluate the results of patients suspected of having these antibodies. If results are not consistent with other clinical observations, additional information should be required before diagnosis.

XV. INTERNAL QUALITY CONTROL

- If the results obtained for Control 1 and/or Control 2 are not within the range specified on the vial label, the results cannot be used unless a satisfactory explanation for the discrepancy has been given.
- If desirable, each laboratory can make their own pools of control samples, which should be kept frozen in aliquots. Do not freeze-thaw more than once.
- Acceptance criteria for the difference between the duplicate results of the samples should rely on Good Laboratory Practises

XVI. REFERENCE INTERVALS

Normal values

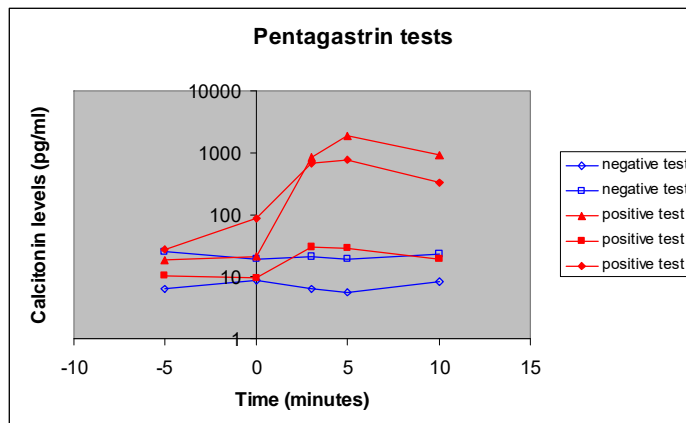
These values are given only for guidance; each laboratory should establish its own normal range of values.

The ranges are expressed as 2.5% to 97.5% percentiles.

Identification	N	Mean (pg/ml)	SD (pg/ml)	Range (pg/ml)
Men	94	5.7	2.3	1.9 – 9.6
Women	98	3.5	1.9	0.5 – 7.8
All	192	4.6	2.4	0.9 – 9.5

Pentagastrin test:

Patients with low base levels of CT:



Patients with medullary thyroid carcinoma, and patients with other malignancies can have a non linear dilution test for calcitonin sample; this could be due to a modified form of calcitonin (polymers and/or glycosylated forms) that is not completely recognized by our antibodies.

XVII. PRECAUTIONS AND WARNINGS

Safety

For in vitro diagnostic use only.

This kit contains ¹²⁵I (half-life: 60 days), emitting ionizing X (28 keV) and γ (35.5 keV) radiations.

This radioactive product can be transferred to and used only by authorized persons; purchase, storage, use and exchange of radioactive products are subject to the legislation of the end user's country. In no case the product must be administered to humans or animals.

All radioactive handling should be executed in a designated area, away from regular passage. A log book for receipt and storage of radioactive materials must be kept in the lab. Laboratory equipment and glassware, which could be contaminated with radioactive substances should be segregated to prevent cross contamination of different radioisotopes.

Any radioactive spills must be cleaned immediately in accordance with the radiology procedures. The radioactive waste must be disposed of following the local regulations and guidelines of the authorities holding jurisdiction over the laboratory. Adherence to the basic rules of radiation safety provides adequate protection.

The human blood components included in this kit have been tested by European approved and/or FDA approved methods and found negative for HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 and 2. No known method can offer complete assurance that human blood derivatives will not transmit hepatitis, AIDS or other infections. Therefore, handling of reagents, serum or plasma specimens should be in accordance with local safety procedures.

All animal products and derivatives have been collected from healthy animals. Bovine components originate from countries where BSE has not been reported. Nevertheless, components containing animal substances should be treated as potentially infectious.

Avoid any skin contact with reagents (sodium azide as preservative). Azide in this kit may react with lead and copper in the plumbing and in this way form highly explosive metal azides. During the washing step, flush the drain with a large amount of water to prevent azide build-up

Do not smoke, drink, eat or apply cosmetics in the working area. Do not pipette by mouth. Use protective clothing and disposable gloves.

XVIII. BIBLIOGRAPHY

- GRAZE K., SPILER I.J., TASHIJAN A.H., MELVIN K.E.W., CERVI-SKINNER S., GAGEL R.F., MILLER H.H., WOLFE H.J., DELELLIS R.A., LEAPE L., FELDMAN Z.T. and REICHLIN S. (1978)
Natural history of familial medullary thyroid carcinoma; Effect of a program for early diagnosis.
Engl. J. Med., 299,18;980-985.
- HENNESSY J.F., WELLS S.A., ONTJES D.A. and COOPER C.W. (1974)
A comparison of pentagastrin injection and calcium infusion as provocative agents for the detection of medullary carcinoma of the thyroid.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 39:487-495.
- ROUGIER Ph., CALMETTES C., LAPLANCHE A., TRAVAGLI J.P., LEFEVRE M., PARMENTIER C., MILHAUD G. and TUBIANA M. (1983)
the values of calcitonin and carcinoembryonic antigen in the treatment and management of nonfamilial medullary thyroid carcinoma.
Cancer, 51,5:856-862.
- WALLACH S.R., ROYSTON I., TAETLE R., WOHL H. and DEFTOS L. (1981)
Plasma calcitonin as a marker of disease activity in patients with small cell carcinoma of the lung.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 53,3:602-606.
- WELLS S.A., BAYLIN S.B., LINEHAN W.M., FARRELL R.E., COX E.B. and COOPER C.W. (1978)
Provocative agents and the diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland.
Ann. Surg., 188,2:139-141.
- AURBACH G.D., MARX S.J. and SPIEGEL A.M. (1985)
Parathyroid hormone, calcitonin, and the calciferols.
In: Williams Textbook of endocrinology (7th edition; Wilson J.D. and Foster D.W. eds) W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1137-1217.
- BODY J.J. et al. (1987)
SCC antigen and other tumor markers in lung cancer: preliminary results.
Excerpta Medica, 162-170.

- ELIARD, P.H. (1989)
Evaluation of a highly sensitive two-site immunoradiometric assay (IRMA) for human calcitonin (hCT): comparison with the RIA's for hCT and for the carboxyl-terminal flanking peptide (PDN-21) of the hCT gene.
71th Annual meeting of the Endocrine Society, Seattle, Washington, Abst. N° 1800 p472.
- NICOLI P. et al. (1995)
Abnormal calcitonin basal levels and pentagastrin response in patients with chronic renal failure on maintenance hemodialysis.
Eur. J. Endocrinol. 132, 1, 75-81.
- PACINI F. et al. (1994)
Routine measurement of serum calcitonin in nodular disease allows the preoperative diagnosis of unsuspected sporadic medullary thyroid carcinoma.
J. Clin. Endocrinol. Metab. Excerpta Medica, 78, 4, 824-9.
- QUESADA J. M. et al. (1994)
Calcitriol corrects deficient calcitonin secretion in the Vit. D deficient elderly.
J. Bone Miner Res. 9, 1, 53-57.

XIX. SUMMARY OF THE PROTOCOL

	TOTAL COUNTS µl	CALIBRATORS µl	SAMPLE(S) µl
Calibrators (0-5)	-	200	-
Samples	-	-	200
Tracer	50	50	50
Incubation	18 ± 1 hours at 2-8°C		
Separation	-	aspirate	
Washing solution	-	2.0 ml	
Separation	-	aspirate	
Washing solution	-	2.0 ml	
Separation	-	aspirate	
Counting	Count tubes for 60 seconds		

DIASource Catalogue Nr : KIP0429	P.I. Number : 1700541/en	Revision nr : 120914/1
-------------------------------------	-----------------------------	---------------------------

Revision date: 2012-09-14

Lire entièrement le protocole avant utilisation.

CT-U.S.-IRMA

I. BUT DU DOSAGE

Trousse de dosage radio-immunométrique pour la mesure quantitative *in vitro* de la Calcitonine humaine dans le sérum.

II. INFORMATIONS GENERALES

- A. **Nom du produit :** DIAsource CT-U.S.-IRMA Kit
- B. **Numéro de catalogue :** KIP0429: 96 tests
- C. **Fabriqué par :** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

Pour une assistance technique ou une information sur une commande :

Tel : +32 (0)10 84.99.11

Fax : +32 (0)10 84.99.91

III. CONTEXTE CLINIQUE

La Calcitonine (CT) est une hormone peptidique de 32 acides aminés sécrétée par les cellules C parafolliculaires de la glande thyroïde sous contrôle du calcium sérique. Après une administration aiguë, ce peptide se comporte comme une hormone hypocalcémisante et hypophosphatémique puissante en augmentant l'élimination rénale de calcium et en réduisant la résorption osseuse. Cependant, son rôle physiologique exact dans le métabolisme osseux n'est pas encore compris entièrement. Différentes formes de CT peuvent apparaître dans les échantillons sanguins, y compris un monomère CT, un monomère oxydé, un dimère, des formes avec un poids moléculaire plus élevé, et un précurseur de CT possible. Les concentrations de ces peptides varient avec la situation clinique, la fonction rénale et l'origine tissulaire de CT (production normale ou ectopique). Le carcinome thyroïde médullaire (MTC) est une tumeur maligne, développé à partir des cellules C, sécrétant de manière excessive de la calcitonine. Cette maladie apparaît sporadiquement (80%) ou de manière héréditaire (20%), et est transmise comme un gène autosomique dominant ou comme un composant du néoplasme endocrine multiple (Iib). L'hypercalcitoninémie modérée apparaît aussi pendant la grossesse, l'anémie pernicieuse, le dysfonctionnement rénal et la période néonatale. De préférence, la forme monomère de la CT est analysée dans ce test.


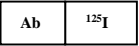


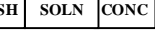
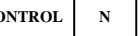
Le dosage de la CT par la trousse CT-U.S.-IRMA est utilisé pour :

- le diagnostic de carcinome thyroïde médullaire (MTC)
- le suivi de tumeurs malignes, pour vérifier le succès de la chirurgie et la possibilité de rechute.
- le diagnostic des cas précliniques des formes familiales de MTC (MEN II ou syndrome de Sipple) par l'utilisation de tests de stimulation.
- l'étude de la pathophysiologie du métabolisme phosphocalcique et osseux.

IV. PRINCIPE DU DOSAGE

La trousse Calcitonine-U.S. IRMA de DIAsource est une trousse de dosage radio-immunométrique basée sur la séparation en tube recouvert d'anticorps. Elle utilise des anticorps monoclonaux dirigés contre des épitopes distincts de la Calcitonine humaine. L'anticorps de capture est attaché sur la surface basse et interne du tube en plastique. Les calibrateurs et les échantillons sont distribués dans les tubes et liés à l'anticorps de capture. L'anticorps signal (marqué radioactivement) est ajouté immédiatement et, après une incubation permettant la réaction immunologique, les tubes sont vidés et lavés pour enlever l'anticorps libre excessif. La radioactivité liée aux tubes est directement proportionnelle à la concentration de l'antigène initiale dans les calibrateurs et les échantillons.

V. REACTIFS FOURNIS

Réactifs	96 tests Kit	Code Couleur	Reconstitution
 Tubes recouverts avec l'anti CT (anticorps monoclonal)	2 x 48	Bleu	Prêt à l'emploi
 Ab ¹²⁵ I TRACEUR: CT marquée à l' ¹²⁵ Iodine dans un tampon TRIS avec de l'albumine bovine, l'azoture (<0.1%) et un colorant rouge inactif	1 flacon 5,5 ml 720 kBq	Rouge	Prêt à l'emploi
 CAL N Calibrateur N = 0 à 5 (cfr. Valeurs exactes sur chaque flacon) dans du sérum humain, gentamycine et du thymol	6 flacons lyophilisés	Jaune	Ajouter 1 ml d'eau distillée
 SERUM Sérum humain sans CT (à utiliser pour la dilution des échantillons) avec de la gentamycine et du thymol	1 vial lyophil.	Noir	Ajouter de l'eau distillée (cfr. volume exact sur chaque flacon)
 WASH SOLN CONC Solution de Lavage (Tris-HCl)	1 flacon 10 ml	Brun	Diluer 70 x avec de l'eau distillée (utiliser un agitateur magnétique).
 CONTROL N Contrôles - N = 1 ou 2 dans du sérum humain, gentamycine et du thymol	2 flacons lyophilisés	Gris	Ajouter 1 ml d'eau distillée

Note: 1. Utiliser le sérum humain libre de CT pour la dilution des échantillons.
2. 1 pg de la préparation du calibrateur est équivalent à 0,19 µIU 2nd IS 89/620.

VI. MATERIEL NON FOURNI

Le matériel mentionné ci-dessous est requis mais non fourni avec la trousse:

- Eau distillée
- Pipettes pour distribuer: 50 µl, 200 µl et 1 ml (l'utilisation de pipettes précises et de pointes jetables en plastique est recommandée)
- Agitateur vortex
- Agitateur magnétique
- Seringue automatique de 5 ml (type Cornwall) pour les lavages
- Système d'aspiration (optionnel)
- Tout compteur gamma capable de mesurer l'¹²⁵I peut être utilisé (rendement minimum 70%).

VII. PREPARATION DES REACTIFS

- Calibrateurs** : Reconstituer les calibrateurs avec 1 ml d'eau distillée..
- Contrôles** : Reconstituer les contrôles avec 1 ml d'eau distillée.
- Sérum sans CT**: Réconstituer le sérum sans CT avec de l'eau distillée.
- Solution de Lavage** : Préparer un volume adéquat de Solution de Lavage en ajoutant 69 volumes d'eau distillée à 1 volume de Solution de Lavage (70x). Utiliser un agitateur magnétique pour homogénéiser. Eliminer la Solution de Lavage non utilisée à la fin de la journée.

VIII. STOCKAGE ET DATE D'EXPIRATION DES REACTIFS

- Avant l'ouverture ou la reconstitution, tous les composants de la trousse sont stables jusqu'à la date d'expiration, indiquée sur l'étiquette, si la trousse est conservée entre 2 et 8°C.
- Après la reconstitution les calibrateurs, les échantillons et le sérum sans CT doivent être congelés immédiatement après l'usage et gardés -20°C pendant 3 mois. Un seul cycle de congélation et décongélation est permis, jeter les calibrateurs, les contrôles et le sérum sans CT après le deuxième usage.
- La Solution de Lavage préparée doit être utilisée le jour même.
- Après la première utilisation, le traceur est stable jusqu'à la date d'expiration, si celui-ci est conservé entre 2 et 8°C dans le flacon d'origine correctement fermé.
- Des altérations dans l'apparence physique des réactifs de la trousse peuvent indiquer une instabilité ou une détérioration.

IX. PREPARATION ET STABILITE DE L'ECHANTILLON

Des échantillons de sérum sont recommandés pour ce test.

- Ne pas utiliser d'échantillons haémolysés.
- Ne pas utiliser des échantillons lipémiques.
- Si un spécimen a (probablement) une concentration au-dessus du calibrateur le plus élevé, il doit être dilué avec le sérum sans CT pour tomber dans l'intervalle de mesure.
- Si les échantillons ne sont pas analysés le jour de la collection du sang, il est recommandé de les congeler jusqu'au test.
- Les échantillons ne peuvent être décongelés qu'une fois.
- Pour des tests répétés congeler les échantillons aliquotés et jeter chaque échantillon après la première décongélation.

X. MODE OPERATOIRE

A. Notes de manipulation

Ne pas utiliser la trousse ou ses composants après avoir dépassé la date d'expiration. Ne pas mélanger de matériel provenant de trousse de lots différents. Mettre tous les réactifs à température ambiante avant utilisation.
Mélanger tous les réactifs et les échantillons sous agitation douce. Pour éviter toute contamination croisée, utiliser une nouvelle pointe de pipette pour l'addition de chaque réactif et échantillon.
Des pipettes de haute précision ou un équipement de pipetage automatique permettent d'augmenter la précision. Respecter les temps d'incubation.
Préparer une courbe de calibration pour chaque nouvelle série d'expériences, ne pas utiliser les données d'expériences précédentes.

B. Mode opératoire

- Identifier les tubes recouverts fournis dans la trousse, en double pour chaque calibrateur, échantillon, contrôle. Pour la détermination de l'activité totale, identifier 2 tubes non recouverts d'anticorps.
- Agiter au vortex brièvement les calibrateurs, les échantillons et les contrôles. Distribuer 200 µl de chacun d'eux dans leurs tubes respectifs.
- Distribuer 50 µl de traceur dans chaque tube.
- Agiter légèrement le portoir de tube manuellement pour libérer toute bulle d'air emprisonnée.
- Incuber pendant 18 ± 1 heures à 2 - 8°C.
- Aspirer (ou décanter) le contenu de chaque tube (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale). Assurez-vous que la pointe utilisée pour aspirer le liquide des tubes atteint le fond de chacun d'eux pour éliminer toute trace de liquide.
- Laver les tubes avec 2 ml de Solution de Lavage (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale) et aspirer. Eviter la formation de mousse pendant l'addition de la Solution de Lavage.
- Aspirer (ou décanter) le contenu de chaque tube (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale).
- Laver les tubes à nouveau avec 2 ml de Solution de Lavage (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale) et aspirer (ou décanter).
- Après le dernier lavage, laisser les tubes droits pendant 2 minutes et aspirer (ou décanter) le reste de liquide.
- Placer les tubes dans un compteur gamma pendant 60 secondes pour quantifier la radioactivité.

XI. CALCUL DES RESULTATS

- Calculer la moyenne de chaque détermination réalisée en double.
- Dessiner sur un graphique linéaire ou semi-logarithmique les cpm (ordonnées) pour chaque calibrateur contre la concentration correspondante en CT (abscisses) et dessiner une courbe de calibration à l'aide des points de calibration, écarter les valeurs aberrantes.

3. Lire la concentration pour chaque contrôle et échantillon par interpolation sur la courbe de calibration.
4. L'analyse informatique des données simplifiera les calculs. Si un système d'analyse de traitement informatique des données est utilisé, il est recommandé d'utiliser la fonction « 4 paramètres » du lissage de courbes.

XII. DONNEES TYPES

Les données représentées ci-dessous sont fournies pour information et ne peuvent jamais être utilisées à la place d'une courbe de calibration.

CT-US-IRMA		cpm	B/T (%)
Activité totale		306174	100
Calibrateur	0 pg/ml	259	0,08
	8,2 pg/ml	1872	0,61
	17,0 pg/ml	4467	1,46
	44,8 pg/ml	11091	3,62
	154,0 pg/ml	39847	13,01
	674,0 pg/ml	148740	48,58

XIII. PERFORMANCE ET LIMITES DU DOSAGE

A. Sensibilité

Vingt calibrateurs zéro ont été testés en parallèle avec un assortiment d'autres calibrateurs. La limite de détection, définie comme la concentration apparente située 2 déviations standards au-dessus de la moyenne déterminée à la fixation zéro, était de 0,9 pg/ml.

B. Spécificité

Quelques hormones qui pourraient interférer ont été analysées dans ce test. Avec des concentrations jusqu'à 100 ng/ml, aucune des hormones suivantes ne montrait d'interférence importante:

- CGRP
- Calcitonine de saumon
- PDN 21
- Procalcitonine N terminale.

C. Précision

INTRA-ESSAI				INTER-ESSAI			
Sérum	N	<X> ± SD (pg/ml)	CV (%)	Sérum	N	<X> ± SD (pg/ml)	CV (%)
A	10	76.1 ± 2.1	2.7	A	10	26.9 ± 2,5	9,3
B	10	337.4 ± 6.5	1.9	B	10	128.8 ± 6,0	4,6

SD : Déviation Standard; CV: Coefficient de variation

D. Exactitude

TEST DE RECUPERATION

CT ajoutée (pg/ml)	CT Concent. mesurée (pg/ml)	Récupération (%)
0		
6	6.1	101.7
15.5	16.0	103.2
48	48.5	101.0
142.5	138.7	97.3
500	517.7	103.5

TEST DE DILUTION

Dilution	Concent. théorique (pg/ml)	Concent. mesurée (pg/ml)	Récupération (%)
1/1		396.0	-
1/2	198.0	193.6	97.8
1/4	99.0	92.3	93.2
1/8	49.5	49.3	99.6
1/16	24.8	23.6	95.4
1/32	12.4	12.1	97.8
1/64	6.2	6.4	103.4

E. Effet crochet

Un échantillon de sérum enrichi par une concentration de 500.000 pg/mL de calcitonine synthétique donne un signal supérieur à la concentration du calibrateur le plus élevé.

Aucun effet crochet n'a été observé pour des échantillons de sérum contenant jusqu'à 16,500 pg/mL de calcitonine naturelle.

Il est recommandé de diluer les échantillons de plus de 100 pg/mL avec le sérum humain ne contenant pas de calcitonine se trouvant dans la trousse. Les échantillons doivent être dilués séquentiellement à 1:10.

Les sujets sains, les patients avec un carcinome médullaire de la thyroïde ou avec d'autres tumeurs présentent différentes formes immuno-chimiques de calcitonine.

La taille de ces formes peut varier d'un type à l'autre et peut donc répondre différemment dans les immuno-essais et dans les tests de dilution.

XIV. LIMITATIONS

- Les échantillons de patients ayant reçu des préparations d'anticorps monoclonaux de souris pour un diagnostic ou comme traitement peuvent contenir des anticorps humains anti-souris (HAMA). De tels échantillons peuvent montrer des valeurs soit faussement élevées soit faussement basses lorsqu'ils sont analysés avec des trousse d'analyses utilisant des anticorps monoclonaux de souris.
- Des anticorps hétérophiles dans le sérum humain peuvent réagir avec le réactif immunoglobulines, interférant ainsi avec les méthodes d'analyse immunologiques in vitro. Les patients couramment en contact avec des animaux ou des produits de sérum animal peuvent être sujets à ces interférences. Des valeurs anormales peuvent être observées en cas de présence d'anticorps hétérophiles. Évaluer soigneusement les résultats des patients suspectés d'avoir ces anticorps. Si les résultats ne sont pas cohérents avec les autres observations cliniques, des informations supplémentaires doivent être demandées avant de poser le diagnostic.

XV. CÔNTRÔLE QUALITE INTERNE

Si les résultats obtenus pour le(s) contrôle(s) 1 et/ou 2 ne sont pas dans l'intervalle spécifié sur l'étiquette du flacon, les résultats ne peuvent pas être utilisés à moins que l'on ait donné une explication satisfaisante de la non-conformité.

- Chaque laboratoire est libre de faire ses propres stocks d'échantillons contrôles, lesquels doivent être congelés aliquotés. Ne pas congeler – décongeler plus de deux fois.
- Les critères d'acceptation pour les écarts des valeurs doubles des échantillons doivent être basés sur les pratiques de laboratoire courantes.

XVI. VALEURS ATTENDUES

Valeurs normales

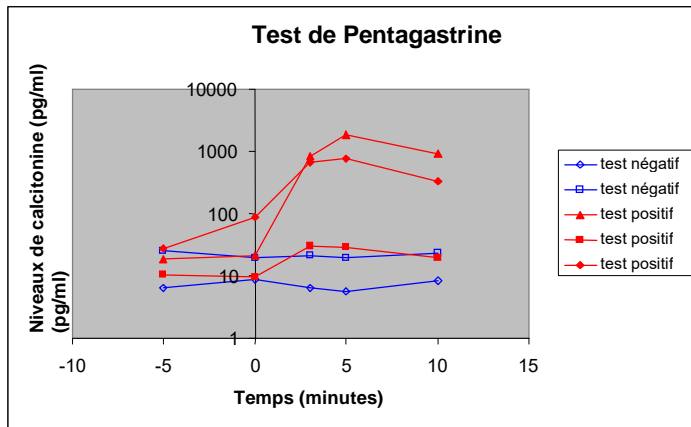
Les valeurs sont données à titre d'information; chaque laboratoire doit établir ses propres écarts de valeurs.

Domaine de mesure basé sur les percentiles de 2,5% & 97,5%.

Identificatio n	N	Moyen (pg/ml)	SD (pg/ml)	Domaine de mesure (pg/ml)
Hommes	94	5,7	2,3	1,9 - 9,6
Femmes	98	3,5	1,9	0,5 - 7,8
Tous	192	4,6	2,4	0,9 - 9,5

Test de pentagastrine:

Patients avec des niveaux de base de CT bas:



Les patients avec un carcinome médullaire de la thyroïde et les patients avec d'autres tumeurs malignes peuvent avoir un test de dilution non linéaire pour la calcitonine. Cela peut être dû à une forme modifiée de la calcitonine (polymères et/ou formes glycosylées) qui n'est pas entièrement reconnue par nos anticorps.

XVII. PRECAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

Sécurité

Pour utilisation en diagnostic *in vitro* uniquement. Cette trousse contient de ^{125}I (demi-vie: 60 jours), une matière radioactive émettant des rayonnements ionisants X (28 keV) et γ (35.5 keV).

Ce produit radioactif peut uniquement être reçu, acheté, possédé ou utilisé par des personnes autorisées; l'achat, le stockage, l'utilisation et l'échange de produits radioactifs sont soumis à la législation du pays de l'utilisateur final. Ce produit ne peut en aucun cas être administré à l'homme ou aux animaux.

Toutes les manipulations radioactives doivent être exécutées dans un secteur désigné, éloigné de tout passage. Un journal de réception et de stockage des matières radioactives doit être tenu à jour dans le laboratoire. L'équipement de laboratoire et la verrerie, qui pourrait être contaminée avec des substances radioactives, doivent être isolés afin d'éviter la contamination croisée de plusieurs isotopes.

Toute contamination ou perte de substance radioactive doit être réglée conformément aux procédures de radio sécurité. Les déchets radioactifs doivent être placés de manière à respecter les réglementations en vigueur. L'adhésion aux règles de base de sécurité concernant les radiations procure une protection adéquate.

Les composants de sang humain inclus dans ce kit ont été évalués par des méthodes approuvées par l'Europe et/ou la FDA et trouvés négatifs pour HBsAg, l'anti-HCV, l'anti-HIV-1 et 2. Aucune méthode connue ne peut offrir l'assurance complète que des dérivés de sang humain ne transmettront pas d'hépatite, le sida ou toute autre infection. Donc, le traitement des réactifs, du sérum ou des échantillons de plasma devront être conformes aux procédures locales de sécurité. Tous les produits animaux et leurs dérivés ont été collectés d'animaux sains. Les composants bovins proviennent de pays où l'ESB n'a pas été détectée. Néanmoins, les composants contenant des substances animales devront être traités comme potentiellement infectieux.

L'azide de sodium est nocif s'il est inhalé, avalé ou en contact avec la peau (l'azide de sodium est utilisé comme agent conservateur). L'azide dans cette trousse pouvant réagir avec le plomb et le cuivre dans les canalisations et donner des composés explosifs, il est nécessaire de nettoyer abondamment à l'eau le matériel utilisé.

Ne pas fumer, ni boire, ni manger, ni appliquer de produits cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés. Ne pas pipeter avec la bouche. Utiliser des vêtements protecteurs et des gants à usage unique.

XVIII. BIBLIOGRAPHIE

- GRAZE K., SPILER I.J., TASHIJAN A.H., MELVIN K.E.W., CERVI-SKINNER S., GAGEL R.F., MILLER H.H., WOLFE H.J., DELELLIS R.A., LEAPE L., FELDMAN Z.T. and REICHLIN S. (1978)
Natural history of familial medullary thyroid carcinoma; Effect of a program for early diagnosis.
Engl. J. Med., 299,18;980-985.
- HENNESSY J.F., WELLS S.A., ONTJES D.A. and COOPER C.W. (1974)
A comparison of pentagastrin injection and calcium infusion as provocative agents for the detection of medullary carcinoma of the thyroid.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 39:487-495.
- ROUGIER Ph., CALMETTES C., LAPLANCHE A., TRAVAGLI J.P., LEFEVRE M., PARMENTIER C., MILHAUD G. and TUBIANA M. (1983)

the values of calcitonin and carcinoembryonic antigen in the treatment and management of nonfamilial medullary thyroid carcinoma.

Cancer, 51,5:856-862.

- WALLACH S.R., ROYSTON I., TAETLE R., WOHL H. and DEFTOS L. (1981)
Plasma calcitonin as a marker of disease activity in patients with small cell carcinoma of the lung.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 53,3:602-606.
- WELLS S.A., BAYLIN S.B., LINEHAN W.M., FARRELL R.E., COX E.B. and COOPER C.W. (1978)
Provocative agents and the diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland.
Ann. Surg., 188,2:139-141.
- AURBACH G.D., MARX S.J. and SPIEGEL A.M. (1985)
Parathyroid hormone, calcitonin, and the calciferols.
In: Williams Textbook of endocrinology (7th edition; Wilson J.D. and Foster D.W. eds) W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1137-1217.
- BODY J.J. et al. (1987)
SCC antigen and other tumor markers in lung cancer: preliminary results.
Excerpta Medica, 162-170.
- ELIARD, P.H. (1989)
Evaluation of a highly sensitive two-site immunoradiometric assay (IRMA) for human calcitonin (hCT): comparison with the RIA's for hCT and for the carboxyl-terminal flanking peptide (PDN-21) of the hCT gene.
71th Annual meeting of the Endocrine Society, Seattle, Washington, Abst. N° 1800 p472.
- NICOLI P. et al. (1995)
Abnormal calcitonin basal levels and pentagastrin response in patients with chronic renal failure on maintenance hemodialysis.
Eur. J. Endocrinol. 132, 1, 75-81.
- PACINI F. et al. (1994)
Routine measurement of serum calcitonin in nodular disease allows the preoperative diagnosis of unsuspected sporadic medullary thyroid carcinoma.
J. Clin. Endocrinol. Metab. Excerpta Medica, 78, 4, 824-9.
- QUESADA J. M. et al. (1994)
Calcitriol corrects deficient calcitonin secretion in the Vit. D deficient elderly.
J. Bone Miner Res. 9, 1, 53-57.

XIX. RESUME DU PROTOCOLE

	ACTIVITE TOTALE (µl)	CALIBRATEURS (µl)	ECHANTILLON(S) (µl)
Calibrateurs (0-5)	-	200	-
Echantillons	-	-	200
Traceur	50	50	50
Incubation	18 ± 1 heures à 2-8°C		
Séparation	-	aspiration	
Solution de Lavage	-	2,0 ml	
Séparation	-	aspiration	
Solution de Lavage	-	2,0 ml	
Séparation	-	aspiration	
Comptage	Temps de comptage des tubes: 60 secondes		

Numéro de catalogue DIAsource : KIP0429	Numéro de P.I. : 1700541/fr	Numéro de révision : 120914/1
--	--------------------------------	----------------------------------

Lees het hele protocol vóór gebruik.

CT-U.S.-IRMA

I. BEOOGD GEBRUIK

Immunoradiometrische testkit voor de in vitro kwantitatieve bepaling van humaan Calcitonine in serum.

II. ALGEMENE INFORMATIE

- A. **Gedeponeerd handelsmerk:** DIAsource CT-U.S.-IRMA Kit
- B. **Catalogusnummer:** KIP0429: 96 tests
- C. **Geproduceerd door:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, België.

Voor technische assistentie of voor bestelinformatie kunt u contact opnemen met:
Tel.: +32 (0)10 84 99 11 - Fax: +32 (0)10 84 99 91

III. KLINISCHE ACHTERGROND

Calcitonine (CT) is een 32 aminozuur peptide hormoon afgescheiden door de para-folliculaire C-cellen van de schildklier onder de controle van serumcalcium. Na acute toediening gedraagt deze peptide zich als een krachtig hypocalciëmisch en hypofosfatemisch hormoon door het verhogen van de calciumopruiming in de nieren en het verlagen van de botresorptie. Nochtans is zijn precieze fysiologische rol in het botmetabolisme nog niet volledig doorgrond. Verschillende vormen van CT kunnen gedetecteerd worden in bloedstalen, waaronder een CT-monomeer, een geoxideerd monomeer, een dimeer, vormen met een hoger moleculair gewicht, en mogelijk precursor voor CT. De concentraties van deze peptiden variëren met de klinische status, de nierfunctie en de weefseloorsprong van CT (normale of ectopische productie). Medulair schildklier carcinoom (MTC) is een kwaadaardige tumor, ontwikkeld vanuit de C-cellen, dat in grote overdaad calcitonine afscheidt. Deze ziekte komt hetzij onder een sporadische (80%) hetzij als een familiale (20%) vorm voor, die wordt doorgegeven als een autosomaal dominant gen of als een component van multipel endocrien neoplasma (IIB). Gematigde hypercalcitoninemie komt ook voor bij zwangerschap, pernicious anemie, disfunctie van de nier en tijdens de neonatale periode. Bij voorkeur wordt de monomere vorm van CT gedetecteerd in deze bepaling.

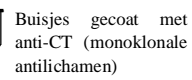
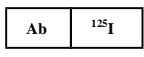
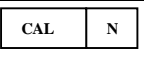

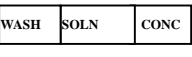
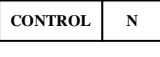
De bepaling van CT door de huidige IRMA wordt gebruikt voor:

- diagnose van medulair schildklier carcinoom (MTC).
- opvolging van kwaadaardige tumoren, om het succes van chirurgie en hervalling na te gaan.
- diagnose van medulair schildklier carcinoom (MTC).
- diagnose van de pre-klinische gevallen van de familiale vormen van MTC (MEN II of Sipple syndroom) door het gebruik van stimulatietesten (calcium of pentagastrine)
- studie van de patofysiologie van het calcium-fosfaat- en botmetabolisme.

IV. BESCHRIJVING VAN DE METHODE

De DIASource Calcitonine-U.S. IRMA is een immunoradiometrische testkit gebaseerd op scheiding aan de hand van een gecoate tube. Het gebruikt monoklonale antilichamen die rechtstreeks tegen verschillende epitopen van humaan Calcitonine gericht zijn. Het invangantilichaam wordt bevestigd aan het onder- en binnenoppervlak van een plastic buis. Kalibrators en stalen worden in de buizen gepipetteerd en binden zich aan het invangenantilichaam. Het signaalantilichaam (radiogelabeld) wordt onmiddellijk toegevoegd en na een incubatie die de immunologische reactie toelaat, worden de buizen leeggemaakt en gewassen om het overdadige ongebonden antilichaam te verwijderen. De radioactiviteit gebonden aan de buizen is rechtstreeks proportioneel aan de initiële antigenconcentratie in de kalibrators en monsters.

V. GELEVERDE REAGENTIA

Reagentia	Kit met 96 testen	Kleur-code	Reconstitutie
	2 x 48	blauw	Klaar voor gebruik
 TRACER: Anti-CT (monoklonale antilichamen) gelabeld met ¹²⁵ I in TRIS buffer met bovendien serumalbumine, azide (<0.1%) en een inerte rode kleurstof	1 flacon 5,5 ml 720 kBq	rood	Klaar voor gebruik
 Kalibrator - N = 0 tot 5 (raadpleeg de flaconetiketten voor de exacte waarden) in calcitonine-vrij humaan serum, gentamycine en thymol	6 gevries- droogd	geel	1 ml gedestilleerd water toevoegen
 CT-vrij humaan serum (te gebruiken voor verdunning van de stalen) met gentamycine en thymol	1 vial lyophil.	zwart	Voeg gedestilleerd water toe (zie volume op het etiket)
 Wasoplossing (Tris-HCl)	1 flacon 10 ml	bruin	70 x met gedestilleerd water verdunnen (gebruik een magnetische roerder).
 Controles - N = 1 of 2 in humaan serum, gentamycine en thymol	2 flacons, gevries- droogd	zilver	1 ml gedestilleerd water toevoegen

Opmerking: 1. Gebruik CT-vrij humaan serum voor monsterverdunningen.
2. 1 pg van de kalibratorbereiding is gelijk aan 0,19 μ IU 2nd IS 89/620.

VI. NIET MEEGELEVERDE MATERIALEN

De volgende materialen zijn noodzakelijk maar worden niet meegeleverd met de kit:

1. Gedestilleerd water.
2. Pipetten voor een volume van 50 μ l, 200 μ l en 1 ml (het gebruik van nauwkeurige pipetten met plastic wegwerptips wordt aanbevolen).
3. Automatische spuit van 5 ml (type Cornwall) voor de wasfase.
4. Afzuigsysteem (facultatief).
5. Vortexmenger.
6. Magnetische roerder.
7. Een gammateller die geschikt is voor de bepaling van ¹²⁵I (rendement van ten minste 70%).

VII. BEREIDING VAN HET REAGENS

- A. **Kalibrators:** Reconstitueer de kalibrators met 1ml gedestilleerd water.
- B. **Controles:** Reconstitueer de controles met 1 ml gedestilleerd water.
- C. **CT-vrij serum:** Reconstitueer het CT-vrije serum met gedestilleerd water (zie het volume op het etiket).

- D. **Werk-wasoplossing:** Bereid een voldoende hoeveelheid werk-wasoplossing door 69 eenheden gedestilleerd water toe te voegen aan 1 eenheid wasoplossing (70 x).

Gebruik een magnetische roerder voor de homogenisering. Op het eind van de dag moet de ongebruikte werk-wasoplossing afgevoerd worden.

VIII. OPSLAG EN VERVALDATUM VAN REAGENTIA

- Vóór opening of reconstitutie zijn alle kitcomponenten houdbaar tot de vervaldatum, zoals vermeld op het etiket, indien zij bewaard werden bij 2 tot 8°C.
- Na reconstitutie moeten kalibrators, controles en CT-vrij serum onmiddellijk worden ingevroren na gebruik en kunnen maximaal gedurende 3 maanden bewaard worden bij -20°C. Slechts één vries- en ontdooicyclus is toegestaan, voer kalibrators, controles en CT-vrij serum na het tweede gebruik af.
- Een vers bereide werk-wasoplossing moet op dezelfde dag nog gebruikt worden.
- Na het eerste gebruik is de tracer houdbaar tot de vervaldatum, indien bewaard bij 2 tot 8°C in de oorspronkelijke, goed afgesloten flacon.
- Wijzigingen in het fysieke aspect van kitreagentia kunnen wijzen op instabiliteit of op een kwaliteitsvermindering.

IX. MONSTERAFNAME EN MONSTERBEREIDING

- Serummonsters worden aanbevolen voor deze test.
- Gebruik geen gehemolyseerde monsters.
- Gebruik geen lipemische monsters
- Als van een specimen verwacht wordt of geweten is dat het een concentratie heeft boven die van de hoogste kalibrator, moet het verdund worden met het CT-vrije serum om binnen het meetbereik te vallen.
- Als monsters niet dezelfde dag bepaald worden als de bloedafname, is het aan te raden ze te bevriezen tot de bepaling
- Monsters kunnen slechts eenmaal ontdooid worden.
- Vries ze voor herhaalde bepaling in aliquots en voer elk monster na eenmaal ontdooid af.

X. PROCEDURE

A. Opmerkingen bij de procedure

Gebruik de kit of de componenten niet langer dan de aangegeven vervaldatum. Materialen van kits van verschillende loten mogen niet gemengd worden. Laat alle reagentia op kamertemperatuur komen vóór gebruik.

Meng alle reagentia en monsters goed door ze voorzichtig te bewegen of door er voorzichtig mee te draaien. Om kruisbesmetting te vermijden, moet een propere wegwerpbare pipettip gebruikt worden voor toevoeging van elk reagens en monster.

Pipetten met een grote precisie of geautomatiseerde pipetteapparatuur zullen de precisie verhogen. Respecteer de incubatietijden.

Bereid een kalibratiecurve voor elke run; men mag geen gegevens gebruiken van voorafgaande runs.

B. Procedure

1. Etiketteer de gecoate buisjes in duplo voor elke kalibrator, voor elk monster, voor elke controle. Etiketteer 2 normale buisjes voor de bepaling van de totaal tellingen.
2. Homogeniseer de kalibrators, monsters en controles en pipetteer 200 μ l van elk in het desbetreffende buisje.
3. Voeg 50 μ l van de tracer toe in elk buisje, de ongecoate buisjes inclusief voor de totaal tellingen.
4. Schud het rek met de buisjes voorzichtig met de hand.
5. Incubeer gedurende 18 \pm 1 uur bij 2 - 8°C.
6. Neem de buisjes voor de totaal tellingen apart en zuig de inhoud van de gecoate buisjes op. Zorg ervoor dat al de vloeistof verwijderd is, achtergebleven druppels zullen het achtergrond c.p.m. verhogen.
7. Was de buisjes 2 maal met 2 ml werk-wasoplossing en zuig af. Vermijd schuimvorming tijdens toevoeging van de werk-wasoplossing. Zuig bij manuele wasprocedure eerst de schuimlaag af en dan de vloeistof. Bij automatische wascyclus wordt voortdurende afzuiging aanbevolen. De precisie wordt verhoogd door de buisjes een tweede maal af te zuigen 2 minuten na het ledigen van het laatste buisje.
8. Tel de buisjes in een gammateller gedurende 60 seconden.

XI. BEREKENING VAN DE RESULTATEN

- Bereken het gemiddelde voor de bepalingen in duplo.
- Zet de cpm (ordinaat) uit voor elke kalibrator tegen de overeenkomstige CT-concentratie (abscis) op semi-logaritmisch of lineair millimeterpapier en teken een kalibratiecurve door de kalibratiepunten, waarbij de duidelijke uitschieters verworpen worden.
- Lees door interpolatie de concentratie voor elke controle en voor elk monster op de kalibratiecurve.
- Door computergestuurde gegevensreductie worden deze berekeningen vereenvoudigd.
Indien de resultaten automatisch verwerkt worden, wordt de 4 parameter logistische functie aanbevolen.

XII. KENMERKENDE GEGEVENS

De volgende gegevens dienen enkel ter illustratie en mogen in geen geval gebruikt worden ter vervanging van de real time kalibratiecurve.

CT-US-IRMA		cpm	B/T (%)
Totaaltelling		306174	100
Kalibrator	0 pg/ml	259	0,08
	8,2 pg/ml	1872	0,61
	17,0 pg/ml	4467	1,46
	44,8 pg/ml	11091	3,62
	154,0 pg/ml	39847	13,01
	674,0 pg/ml	148740	48,58

XIII. EIGENSCHAPPEN EN GRENZEN

A. Detectielimiet

Twintig nulkalibrators werden bepaald, samen met een reeks andere kalibrators. De detectielimiet, omschreven als de schijnbare concentratie van twee standaarddeviaties boven de gemiddelde tellingen bij nulbinding, bedroeg 0,9 pg/ml.

B. Specificiteit

Sommige mogelijk interfererende hormonen zijn getest in deze test. Bij concentraties tot 100 ng/ml, toonde geen van de volgende hormonen een significante interferentie:

- CGRP
- Zalm-calcitonine
- PDN 21
- Procalcitonine N terminaal.

C. Precisie

BINNEN EEN TEST				TUSSEN TESTEN			
Serum	N	<X> ± SD (pg/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> ± SD (pg/ml)	CV (%)
A	10	76.1 ± 2.1	2.7	A	10	26.9 ± 2.5	9.3
B	10	337.4 ± 6.5	1.9	B	10	128.8 ± 6.0	4.6

SD: standaarddeviatie; VC: variatiecoëfficiënt

D. Nauwkeurigheid

RECOVERY –TEST

Toegevoegd CT (pg/ml)	CT Concentratie die bepaald werd (pg/ml)	Recovery (%)
0		
6	6.1	101.7
15.5	16.0	103.2
48	48.5	101.0
142.5	138.7	97.3
500	517.7	103.5

VERDUNNINGSTEST

Verdunning	Theoretische concentratie (pg/ml)	Concentratie die bepaald werd (pg/ml)	Recovery (%)
1/1		396.0	-
1/2	198.0	193.6	97.8
1/4	99.0	92.3	93.2
1/8	49.5	49.3	99.6
1/16	24.8	23.6	95.4
1/32	12.4	12.1	97.8
1/64	6.2	6.4	103.4

E. "Hook"-effect

Een serumstaal met een gespikete concentratie van 500.000 pg/ml synthetisch Calcitonine geeft een signaal boven de hoogste kalibratorconcentratie.

Er werd geen "Hook"-effect waargenomen op serumstalen die tot 16.500 pg/ml natief Calcitonine bevatten.

Het wordt aanbevolen om stalen van meer dan 100 pg/ml te verdunnen met CT-vrij humaan serum, meegeleverd met de kit. Stalen moeten achtereenvolgens 1:10 worden verdund.

Gezonde personen, patiënten met medulair schildklier carcinoom of andere tumoren vertonen verschillende immunochemische vormen van calcitonine.

De omvang van deze vormen kan van type tot type variëren en bijgevolg kan de reactie in immunoassays en verdunningstests anders zijn.

XIV. BEPERKINGEN

- Specimens van patiënten die voor de diagnose of behandeling preparaten hebben gekregen van monoklonale antilichamen van muizen kunnen humane anti-muis-antilichamen (HAMA) bevatten. Dergelijke specimens kunnen ofwel vals-verhoogde of vals-verlaagde waarden vertonen wanneer ze met testkits worden getest waarbij gebruik wordt gemaakt van monoklonale antilichamen van muizen.
- Heterofiele antilichamen in humaan serum kunnen reageren met reagensimmunoglobulinen, wat een effect kan hebben op in vitro immunoassays.
Patiënten die regelmatig aan dieren of dierlijke serumproducten worden blootgesteld, kunnen vatbaar zijn voor een dergelijk effect, terwijl afwijkende waarden kunnen worden waargenomen wanneer heterofiele antilichamen aanwezig zijn. Beoordeel de resultaten zorgvuldig van patiënten van wie vermoed wordt dat ze deze antilichamen hebben.
Als de resultaten niet overeenstemmen met andere klinische waarnemingen moet bijkomende informatie worden verkregen voordat de diagnose wordt gesteld.

XV. INTERNE KWALITEITSCONTROLE

- Indien de resultaten, die verkregen werden voor controle 1 en/of controle 2, niet binnen het bereik vallen zoals vermeld op het flaconetiket, dan mogen de resultaten niet gebruikt worden tenzij een bevredigende uitleg gegeven wordt voor de discrepantie.
- Indien gewenst, kan elk laboratorium zijn eigen pools voor controlemonsters maken, die dan in aliquots bewaard moeten worden in de diepvriezer. Gelieve niet meer dan twee keer in te vriezen en te ontdooien.
- Aanvaardingscriteria voor het verschil tussen de resultaten in duplo van monsters moeten steunen op gangbare laboratoriumpraktijken.

XVI. REFERENTIE-INTERVALS

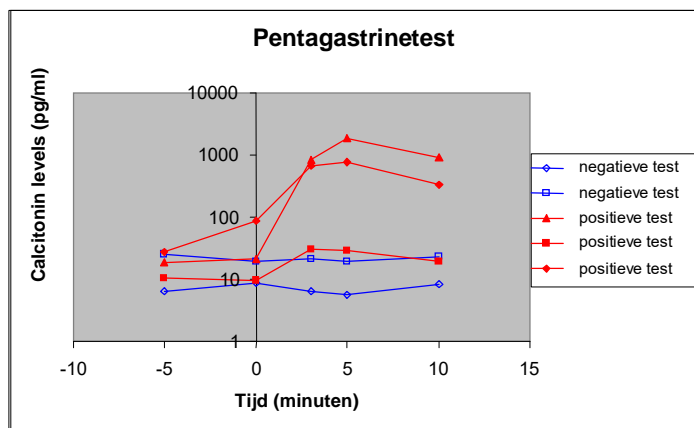
Normale waarden

Deze waarden worden slechts als leidraad gegeven; elk laboratorium moet zijn eigen normaal bereik van waarden uitmaken.
Bereik gebaseerd op 2,5% & 97,5% percentielen

Identificatie	N	Gemiddelde (pg/ml)	SD (pg/ml)	Bereik (pg/ml)
Mannen	94	5,7	2,3	1,9 - 9,6
Vrouwen	98	3,5	1,9	0,5 - 7,8
Alle	192	4,6	2,4	0,9 - 9,5

Pentagastrine test:

Patiënten met lage basisniveaus van CT:



Bij patiënten met medulair schildklier carcinoom en patiënten met andere kwaadaardige tumoren kan een verdunningstest niet-lineair zijn voor een calcitoninestaal; dit kan het gevolg zijn van een gemodificeerde vorm van calcitonine (polymeren en/of geglycosylerde vormen) die niet volledig door uw antilichamen wordt herkend.

XVII. VOORZORGSMAATREGELEN EN WAARSCHUWINGEN

Veiligheid

Uitsluitend voor in vitro diagnostisch gebruik. Deze kit bevat ^{125}I (halfwaardetijd: 60 dagen), dat ioniserende X- (28 keV) en γ -stralen (35.5 keV) uitzendt. Dit radioactieve product mag enkel overhandigd worden aan en gebruikt worden door bevoegd personeel; ontvangst, opslag, gebruik en overdracht van radioactieve producten zijn onderworpen aan de wetgeving van het land van de eindgebruiker. In geen geval mag het product toegediend worden aan mensen of dieren.

Alle handelingen met radioactief materiaal moeten plaatsvinden in een daartoe bestemde ruimte, waar uitsluitend bevoegd personeel toegelaten wordt. Een logboek met ontvangst en opslag van radioactieve materialen moet worden bijgehouden in het laboratorium. Laboratoriumapparatuur en glaswerk, dat eventueel gecontamineerd werd met radioactieve bestanddelen, moeten worden gesegregeerd om kruisbesmetting van verschillende radioisotopen te vermijden.

Als radioactief materiaal gemorst werd, dan moet dat onmiddellijk gereinigd worden in overeenstemming met de procedure voor stralingsveiligheid. Het radioactieve afval moet worden weggegooid in overeenstemming met de plaatselijke voorschriften en richtlijnen van de autoriteiten waaronder het laboratorium valt. Naleving van de basisregels van stralingsveiligheid zorgt voor een juiste bescherming.

De componenten, afkomstig van menselijk bloed, in deze kit werden getest door in Europa goedgekeurde en/of door de Amerikaanse FDA goedgekeurde methoden op aanwezigheid van HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 en 2 en gaven een negatief resultaat. Geen enkele bekende methode kan echter volledige garantie bieden dat derivaten van menselijk bloed geen hepatitis, aids of andere infecties overdragen. Daarom moet men reagentia, serum- of plasmamonsters behandelen in overeenstemming met de plaatselijke veiligheidsprocedures.

Alle producten en derivaten van dierlijke oorsprong zijn afkomstig van gezonde dieren. Boviene componenten komen uit landen waar BSE niet gerapporteerd werd. Toch moeten componenten die bestanddelen van dierlijke oorsprong bevatten, behandeld worden als potentieel infectieus materiaal.

Vermijd dat de reagentia (natriumazide als conserveermiddel) in contact komen met de huid. Azide in deze kit kan reageren met lood en koper in de afvoerleidingen en op die manier zeer explosieve metaalaziden vormen. Tijdens de wasfase moeten de afvoerleidingen ruimschoots met water nagespoeld worden om ophoping van azide te vermijden.

Niet roken, drinken, eten of cosmetica aanbrengen in de werkruimte. Niet met de mond pipetteren. Draag beschermende kleding en gebruik wegwerphandschoenen.

XVIII. BIBLIOGRAFIE

- GRAZE K., SPILER I.J., TASHIAN A.H., MELVIN K.E.W., CERVI-SKINNER S., GAGEL R.F., MILLER H.H., WOLFE H.J., DELELLIS R.A., LEAPE L., FELDMAN Z.T. and REICHLIN S. (1978) **Natural history of familial medullary thyroid carcinoma; Effect of a program for early diagnosis.** Engl. J. Med., 299,18:980-985.
- HENNESSY J.F., WELLS S.A., ONTJES D.A. and COOPER C.W. (1974) **A comparison of pentagastrin injection and calcium infusion as provocative agents for the detection of medullary carcinoma of the thyroid.** J. Clin. Endocrinol. Metab., 39:487-495.
- ROUGIER Ph., CALMETTES C., LAPLANCHE A., TRAVAGLI J.P., LEFEVRE M., PARMENTIER C., MILHAUD G. and TUBIANA M. (1983) **the values of calcitonin and carcinoembryonic antigen in the treatment and management of nonfamilial medullary thyroid carcinoma.** Cancer, 51,5:856-862.
- WALLACH S.R., ROYSTON I., TAETLE R., WOHL H. and DEFTOS L. (1981) **Plasma calcitonin as a marker of disease activity in patients with small cell carcinoma of the lung.** J. Clin. Endocrinol. Metab., 53,3:602-606.
- WELLS S.A., BAYLIN S.B., LINEHAN W.M., FARRELL R.E., COX E.B. and COOPER C.W. (1978) **Provocative agents and the diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland.** Ann. Surg., 188,2:139-141.
- AURBACH G.D., MARX S.J. and SPIEGEL A.M. (1985) **Parathyroid hormone, calcitonin, and the calciferols.** In: williams Textbook of endocrinology (7th edition; Wilson J.D. and foster D.W. eds) W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1137-1217.
- BODY J.J. et al. (1987) **SCC antigen and other tumor markers in lung cancer: preliminary results.** Excerpta Medica, 162-170.
- ELIARD, P.H. (1989) **Evaluation of a highly sensitive two-site immunoradiometric assay (IRMA) for human calcitonin (hCT): comparison with the RIA's for hCT and for the carboxyl-terminal flanking peptide (PDN-21) of the hCT gene.** 71th Annual meeting of the Endocrine Society, Seattle, Washington, Abst. N° 1800 p472.
- NICOLI P. et al. (1995) **Abnormal calcitonin basal levels and pentagastrin response in patients with chronic renal failure on maintenance hemodialysis.** Eur. J. Endocrinol. 132, 1, 75-81.
- PACINI F. et al. (1994) **Routine measurement of serum calcitonin in modular disease allows the preoperative diagnosis of unsuspected sporadic medullary thyroid carcinoma.** J. Clin. Endocrinol. Metab. Excerpta Medica, 78, 4, 824-9.
- QUESADA J. M. et al. (1994) **Calcitriol corrects deficient calcitonin secretion in the Vit. D deficient elderly.** J. Bone Miner Res. 9, 1, 53-57.

XIX. SAMENVATTING VAN HET PROTOCOL

	TOTAAL- TELLINGEN (µl)	KALIBRA- TORS (µl)	MONSTER(S) (µl)
Kalibrators (0 -5)	-	200	-
Monsters	-	-	200
Tracer	50	50	50
Incubatie	18 ± 1 uren bij 2-8°C		
Scheiding	-	opzuigen (of decanteer)	
Werk-wasoplossing	-	2,0 ml	
Scheiding	-	opzuigen (of decanteer)	
Werk-wasoplossing	-	2,0 ml	
Scheiding	-	opzuigen (of decanteer)	
Telling	Tel de buisjes gedurende 60 seconden		

DIASource catalogusnummer: KIP0429	Nummer van de bijsluiter: 1700541/nl	Revisienummer: 120914/1
--	--	----------------------------

Revisedatum : 2012-09-14

For Informational/Research Purposes Only

Vor Gebrauch des Kits lesen Sie bitte diese Packungsbeilage.

CT-U.S.-IRMA

I. VERWENDUNGSZWECK

Ein Radio-Immunoassay für die quantitative *in vitro* Bestimmung von humanem Calcitonin in Serum.

II. ALLGEMEINE INFORMATION

- A. **Handelsbezeichnung :** DIAsource CT-U.S.-IRMA Kit
- B. **Katalognummer :** KIP0429: 96 tests
- C. **Hergestellt von:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgien.

Für technische Unterstützung oder Bestellungen wenden Sie sich bitte an:

Tel : +32 (0)10 84.99.11 Fax : +32 (0)10 84.99.91

Für Deutschland : Kostenfreie Rufnummer : 0800 1 00 85 74 - Kostenfreie Faxnummer : 0800 1 00 85 75

E-mail Ordering : ordering@diasource.be

III. KLINISCHER HINTERGRUND

Calcitonin (CT) ist ein aus 32 Aminosäuren bestehendes Peptidhormon, das unter Serum-Kalzium-Kontrolle von den parafollikulären Zellen (C-Zellen) der Schilddrüse gebildet wird. Nach akuter Administration agiert dieses Peptid als potentes hypocalcämisches und hypophosphatämisches Hormon, indem es die renale Kalzium-Clearance steigert und die Knochenresorption senkt. Seine genaue physiologische Rolle im Knochenstoffwechsel ist jedoch noch nicht völlig gesichert.

In Blutproben können verschiedene Formen von CT gefunden werden, d. h. ein CT-Monomer, eine oxidierte Monomer-Form, ein Dimer sowie ein Vorläuferhormon mit höherer Molekülmasse. Die Konzentrationen dieser Peptide variieren je nach klinischem Status, Nierenfunktion und Gewebsherkunft des Calcitonins (normale oder ektopische Herkunft).

Das medulläre Schilddrüsenkarzinom (MSK) ist ein bösartiger Tumor, der aus den C-Zellen gebildet wird und Calcitonin in großen Mengen freisetzt. Diese Erkrankung tritt als eine sporadische (80 %) oder als eine familiäre (20 %) Form auf, die durch autosomal-dominante Vererbung oder als Bestandteil einer multiplen endokrinen Neoplasie (Iib) entstehen kann.

Eine moderate Hypercalcitoninämie kann auch während der Schwangerschaft, bei einer perniziösen Anämie, einer Nierenfehlfunktion und während der neonatalen Phase auftreten. In diesem Assay wird vor allem die Monomer-Form von CT festgestellt.


Indikationen für die Anwendung dieses CT-IRMA sind:

- die Diagnose des medullären Schilddrüsenkarzinoms (MSK);
- die Erfolgskontrolle einer Operation sowie die Überwachung des Wiederauftretens eines MSK;
- die Diagnose von präklinischen familiären Formen von MSK (MEN II oder Sipple Syndrom) unter Verwendung von Stimulierungstestungen (Kalzium oder Pentagastrin);
- die Studie der Pathophysiologie des Kalziumphosphat- und Knochenstoffwechsels.

IV. GRUNDSÄTZLICHES ZUR DURCHFÜHRUNG

Der DIASource Calcitonin-U.S. IRMA ist ein immunoradiometrischer Assay auf Grundlage der Separation beschichteter Röhrchen. Er verwendet monoklonale Antikörper, die gegen bestimmte Epitope von menschlichem Calcitonin gerichtet werden. Der Fängerantikörper ist an die untere Innenfläche eines Kunststoffröhrchens gebunden. Kalibratoren und Proben werden in die Röhrchen pipettiert und verbinden sich mit dem Fängerantikörper. Der Signalantikörper (radioaktiv markiert) wird sofort zugesetzt und nach einer Inkubation, die die immunologische Reaktion ermöglicht, werden die Röhrchen geleert und gewaschen, um überschüssige, nicht gebundene Antikörper zu entfernen. Die Konzentration von intaktem Calcitonin in den Kalibratoren und Proben ist direkt proportional zur Menge der gemessenen Radioaktivität an den Röhrchenwänden.

V. MITGELIEFERTE REAGENZIEN

Reagenzien	96 Test-Kit	Farb-code	Rekonstitution			
 Mit anti CT-beschichtete Röhrchen (monoklonale Antikörper)	2 x 48	blau	gebrauchsfertig			
<table border="1" data-bbox="108 748 245 792"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> TRACER: ¹²⁵ Iodmarkierter Anti-CT (monoklonale Antikörper) in TRIS-puffer mit Rinderserumalbumin, Azid (< 0,1%) und inertem roten Farbstoff	Ab	¹²⁵ I	1 Gefäß 5,5 ml 720 kBq	rot	gebrauchsfertig	
Ab	¹²⁵ I					
<table border="1" data-bbox="108 945 233 990"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Kalibrator - N = 0 to 5 (genaue Werte auf Gefäß-Etiketten) in Calcitonin-freiem Humanserum mit Gentamycin und Thymol	CAL	N	6 Gefäße lyophilisiert	gelb	1 ml dest. Wasser zugeben	
CAL	N					
<table border="1" data-bbox="76 1128 175 1173"><tr><td>SERUM</td></tr></table> CT-freies Humanserum (für Probenverdünnungen zu verwenden) mit Gentamycine und Thymol	SERUM	1 Gefäß lyophilisiert	schwarz	Dest. Wasser zugeben (Menge siehe Etikett)		
SERUM						
<table border="1" data-bbox="76 1285 264 1330"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Waschlösung (Tris-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 Gefäß 10 ml	braun	70 x mit dest. Wasser verdünnen (Magnetrührer benutzen).
WASH	SOLN	CONC				
<table border="1" data-bbox="76 1397 245 1442"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Kontrollen - N = 1 or 2 Humanserum mit Gentamycin und Thymol	CONTROL	N	2 Gefäße lyophilisiert	silber	1 ml dest. Wasser zugeben	
CONTROL	N					

Bemerkung: 1. Benutzen Sie das CT-freie Serum zur Probenverdünnung.
2. 1 pg der Standardzubereitung ist äquivalent zu 0,19 µIU 2nd IS 89/620.

VI. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL

Folgendes Material wird benötigt, aber nicht mit dem Kit mitgeliefert:

1. Dest. Wasser
2. Pipetten: 50 µl, 200 µl und 1 ml (Verwendung von Präzisionspipetten mit Einwegpipettenspitzen wird empfohlen)
3. 5 ml automatische Spritze (Cornwall Typ) zum Waschen
4. Absaugsystem (optional)
5. Vortex Mixer
6. Magnetrührer
7. Jegl. Gamma-Counter, der 125I messen kann, kann verwendet werden. (minimal Yield 70 %)

VII. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- A. Kalibratoren:** Rekonstituieren Sie die Standards mit 1ml dest. Wasser.
- B. Kontrollen:** Rekonstituieren Sie die Kontrollen mit 1 ml dest. Wasser.
- C. CT-freies Serum:** Rekonstituieren Sie das CT-freie Serum mit dest. Wasser (Volumen siehe Etikett).

- D. Waschlösung:** Bereiten Sie ein angemessenes Volumen Waschlösung aus einem Anteil Waschlösung (70x) mit 69 Anteilen dest. Wasser zu. Verwenden Sie einen Magnetrührer zum gleichmäßigen Durchmischen. Verwerfen Sie die nicht benutzte Waschlösung am Ende des Tages.

VIII. AUFBEWAHRUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

- Vor dem Öffnen oder Rekonstituieren sind die Reagenzien des Kits bis zum Ablaufdatum (Angaben auf Etikett) bei Lagerung bei 2 °C bis 8 °C stabil.
- Die rekonstituierten Kalibratoren und Kontrollen sowie das CT-freie Serum sollten sofort verwendet werden. Aliquotiert können sie bei -20 °C 3 Monate lang gelagert werden. Die Kalibratoren und Kontrollen sollten nur einmal eingefroren werden, nach der zweiten Verwendung sind die Kalibratoren, Kontrollen und CT-freies Serum zu entsorgen.
- Frisch zubereitete Waschlösung sollte am selben Tag benutzt werden.
- Nach der ersten Benutzung ist der Tracer bei Aufbewahrung im Originalgefäß und bei 2 °C bis 8 °C bis zum Ablaufdatum stabil.
- Veränderungen im Aussehen der Kitkomponenten können ein Anzeichen für Instabilität oder Zerfall sein.

IX. PROBENSAMMLUNG UND -VORBEREITUNG

Für diesen Assay werden Serumproben empfohlen.

- Keine hämolytischen Proben benutzen.
- Keine lipämischen Proben verwenden.
- Wenn von einem Exemplar erwartet wird oder bekannt ist, dass die Konzentration über dem höchsten Kalibrator liegen wird, muss es mit dem CT-freien Serum verdünnt werden, um in den Messbereich zu fallen.
- Wenn die Proben nicht am selben Tag getestet werden, an dem die Blutabnahme erfolgte, wird empfohlen, sie bis zur Durchführung des Assays einzufrieren.
- Proben können nur einmal aufgetaut werden.
- Für Wiederholungstests sollten Proben aliquotiert und eingefroren werden. Die Proben sollten nach dem ersten Auftauen entsorgt werden.

X. DURCHFÜHRUNG

A. Bemerkungen zur Durchführung

Verwenden Sie den Kit oder dessen Komponenten nicht nach Ablaufdatum. Vermischen Sie Materialien von unterschiedlichen Kit Chargen nicht. Bringen Sie alle Reagenzien vor der Verwendung auf Raumtemperatur.

Mischen Sie alle Reagenzien und Proben gründlich durch sanftes Schütteln oder Rühren. Verwenden Sie saubere Einwegpipettenspitzen, um Kreuzkontamination zu vermeiden.

Präzisionspipetten oder ein automatisches Pipettiersystem erhöhen die Präzision. Achten Sie auf die Einhaltung der Inkubationszeiten.

Erstellen Sie für jeden Durchlauf eine Standardkurve, verwenden Sie nicht die Daten von früheren Durchläufen.

B. Durchführung

1. Beschriften Sie je 2 beschichtete Röhrchen für jeden Kalibrator, jede Probe und Kontrolle. Zur Bestimmung der Gesamtaktivität, beschriften Sie 2 normale Röhrchen.
2. Vortexen Sie Kalibratoren, Proben und Kontrollen kurz und geben Sie jeweils 200 µl in ihre Röhrchen.
3. Geben Sie 50 µl des Tracers in jedes Röhrchen.
4. Schütteln Sie vorsichtig die Halterung mit den Röhrchen um Blasen zu entfernen.
5. Inkubieren Sie 18 ± 1 Stunden bei 2 – 8 °C.
6. Saugen Sie den Inhalt jedes Röhrchens ab (oder dekantieren Sie) (außer Gesamtaktivität). Vergewissern Sie sich, dass die Plastikspitze des Absaugers den Boden des beschichteten Röhrchens erreicht, um die gesamte Flüssigkeit zu entfernen.
7. Waschen Sie die Röhrchen mit 2 ml Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab (oder dekantieren Sie). Vermeiden Sie Schaumbildung bei Zugabe der Waschlösung.
8. Saugen Sie den Inhalt jeden Röhrchens (außer Gesamtaktivität) ab (oder dekantieren Sie).
9. Waschen Sie die Röhrchen mit 2 ml Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab (oder dekantieren Sie).
10. Lassen Sie nach dem letzten Waschen die Röhrchen 2 Minuten aufrecht stehen und saugen Sie den verbleibenden Flüssigkeitstropfen ab.
11. Werten Sie die Röhrchen in einem Gamma-Counter 60 Sekunden aus.

XI. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

1. Berechnen Sie den Durchschnitt aus den Doppelbestimmungen.
2. Tragen Sie auf semilogarithmischem oder linearem Millimeterpapier den c.p.m. (Ordinate) für jeden Standard gegen die entsprechende Konzentration CT (Abszisse) und zeichnen Sie eine Standardkurve durch die Standardpunkte, schließen Sie offensichtliche „Ausreißer“ aus.
3. Berechnen Sie die Konzentration für jede Kontrolle und Probe durch Interpolation aus der Standardkurve.
4. Computergestützte Methoden können ebenfalls zur Erstellung der Kalibrationskurve verwendet werden. Falls die Ergebnisberechnung mit dem Computer durchgeführt wird, empfehlen wir die Berechnung mit einer „4 Parameter“-Kurvenfunktion.

XII. TYPISCHE WERTE

Die folgenden Daten dienen nur zu Demonstrationszwecken und können nicht als Ersatz für die Echtzeitstandardkurve verwendet werden.

CT-US-IRMA		cpm	B/T (%)
Gesamtaktivität		306174	100
Kalibrator	0 pg/ml	259	0,08
	8,2 pg/ml	1872	0,61
	17,0 pg/ml	4467	1,46
	44,8 pg/ml	11091	3,62
	154,0 pg/ml	39847	13,01
	674,0 pg/ml	148740	48,58

XIII. LEISTUNGSMERKMALE UND GRENZEN DER METHODIK

A. Nachweisgrenze

Zwanzig Null-Kalibratoren wurden zusammen mit einem Satz anderer Kalibratoren gemessen.

Die Nachweisgrenze, definiert als die scheinbare Konzentration bei zwei Standardabweichungen über dem gemessenen Durchschnittswert bei Nullbindung, entsprach 0,9 pg/ml.

B. Spezifität

Einige potenziell interferierende Hormone wurden in diesem Assay getestet. Bei Konzentrationen bis zu 100 ng/ml zeigte keines der folgenden Hormone eine signifikante Interferenz:

- cGRP
- Lachs-Calcitonin
- PDN 21
- Procalcitonin N-terminal.

C. Präzision

INTRA ASSAY

INTER ASSAY

Serum	N	<X> ± SD (pg/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> ± SD (pg/ml)	CV (%)
A	10	76,1 ± 2,1	2,7	A	10	26,9 ± 2,5	9,3
B	10	337,4 ± 6,5	1,9	B	10	128,8 ± 6,0	4,6

SD : Standardabweichung; CV: Variationskoeffizient

D. Genauigkeit

WIEDERFINDUNGSTEST

Zugeg. Calcitonin (pg/ml)	Gemess. Konz. Calcitonin (pg/ml)	Wiedergefunden (%)
0		
6	6.1	101.7
15.5	16.0	103.2
48	48.5	101.0
142.5	138.7	97.3
500	517.7	103.5

VERDÜNNUNGSTEST

Verd.	Theoret. Konz. (pg/ml)	Gemess. Konz. (pg/ml)	Wiedergefunden (%)
1/1		396.0	-
1/2	198.0	193.6	97.8
1/4	99.0	92.3	93.2
1/8	49.5	49.3	99.6
1/16	24.8	23.6	95.4
1/32	12.4	12.1	97.8
1/64	6.2	6.4	103.4

E. Hookeffekt

Eine Serumprobe mit einer Konzentration an synthetischem Calcitonin von 500.000 pg/ml zeigt ein Signal, welches über dem der höchsten Kalibrator Konzentration liegt.

Bei Serumproben mit bis zu 16500 pg/ml natürlichem Calcitonin wurde kein Hookeffekt beobachtet.

Proben mit mehr als 100 pg/ml müssen 1:10 mit CT-freiem menschlichen Serum (Bestandteil des Kits) verdünnt werden.

Gesunde und Patienten mit medullärem Schilddrüsenkarzinom oder anderen Tumoren weisen unterschiedliche immunchemische Formen von Calcitonin auf.

Die Größe dieser Formen kann von Typ zu Typ variieren und kann daher in Immunoassays und Verdünnungstests unterschiedlich reagieren.

XIV. ANWENDUNGSGRENZEN

- Proben von Patienten, die Zubereitungen von monoklonalen Maus-Antikörpern zur Diagnose oder Therapie erhalten haben, können humane Anti-Maus Antikörper (HAMA) enthalten. Solche Proben können entweder falsch erhöhte oder zu niedrige Werte ergeben, wenn sie mit Testsystemen getestet werden, die monoklonale Maus Antikörper enthalten.
- Heterophile Antikörper im humanen Serum können mit Immunglobulinen der Reagenzien reagieren und so mit in vitro Immunoassays interferieren. Patienten, die routinemäßigen Umgang mit Tieren oder Tierseren haben, können zu dieser Interferenz neigen und so können anormale Werte in Gegenwart von heterophilen Antikörpern beobachtet werden. Ergebnisse von Patienten, bei denen diese Antikörper vermutet werden, müssen sorgfältig evaluiert werden. Wenn die Ergebnisse nicht mit anderen klinischen Beobachtungen übereinstimmen, sollten weitere Informationen vor der Diagnosestellung ermittelt werden.

XV. INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

- Entsprechen die Ist-Werte nicht den auf den Fläschchen angegebenen Soll-Werten, können die Werte, ohne treffende Erklärung der Abweichungen, nicht weiterverarbeitet werden.
- Falls zusätzliche Kontrollen erwünscht sind, kann jedes Labor seinen eigenen Pool herstellen, der in Aliquots eingefroren werden sollte. Beachten Sie, dass nur zwei Gefrier-Auftau-Zyklen erlaubt sind.
- Akzeptanzkriterien für die Differenz zwischen den Resultaten der Wiederholungstests anhand der Proben müssen auf Guter Laborpraxis beruhen.

XVI. REFERENZINTERVALLE

Normalwerte

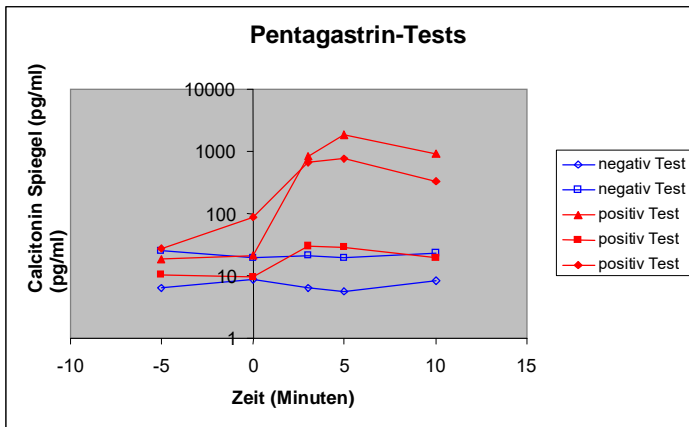
Diese Werte sind nur Richtwerte; jedes Labor muss seinen eigenen Normalwertbereich ermitteln.

Bereich auf Basis der 2,5% und 97,5% Perzentile.

Kennzeichnung	N	Mittelwert (pg/ml)	SD (pg/ml)	Bereich (pg/ml)
Männer	94	5,7	2,3	1,9 - 9,6
Frauen	98	3,5	1,9	0,5 - 7,8
Gesamt	192	4,6	2,4	0,9 - 9,5

Pentagastrin-Test:

Patienten mit niedrigen CT-Grundwerten:



Patienten mit medullärem Schilddrüsenkarzinom und Patienten mit anderen Malignitäten können einen nichtlinearen Verdünnungstest auf Calcitonin aufweisen. Hierfür kann eine modifizierte Form des Calcitonins (Polymere und/oder glykolytierte Formen) verantwortlich sein, die nicht vollständig von unseren Antikörpern erkannt wird.

XVII. VORSICHTMASSNAHMEN UND WARNUNGEN

Sicherheit

Nur für diagnostische Zwecke.

Dieser Kit enthält ¹²⁵I (Halbwertszeit: 60 Tagen), das ionisierende X (28 keV) und γ (35.5 keV) Strahlungen emittiert.

Dieses radioaktive Produkt kann nur an autorisierte Personen abgegeben und darf nur von diesen angewendet werden; Erwerb, Lagerung, Verwendung und Austausch radioaktiver Produkte sind Gegenstand der Gesetzgebung des Landes des jeweiligen Endverbrauchers. In keinem Fall darf das Produkt an Menschen oder Tieren angewendet werden.

Der Umgang mit radioaktiven Substanzen sollte fern von Durchgangsverkehr in einem speziell ausgewiesenen Bereich stattfinden. Ein Logbuch für Protokolle und Aufbewahrung muss im Labor sein. Die Laborausstattung und die Glasbehälter, die mit radioaktiven Substanzen kontaminiert werden können, müssen gesondert werden, um Kreuzkontaminationen mit unterschiedlichen Radioisotopen zu verhindern. Verschüttete radioaktive Substanzen müssen sofort den Sicherheitsbestimmungen entsprechend entfernt werden. Radioaktive Abfälle müssen entsprechend den lokalen Bestimmungen und Richtlinien der für das Labor zuständigen Behörden gelagert werden. Das Einhalten der Sicherheitsbestimmungen für den Umgang mit radioaktiven Substanzen gewährleistet ausreichenden Schutz.

Die menschlichen Blutkomponenten in diesem Kit wurden mit europäischen und in USA erprobten FDA Methoden getestet, sie waren negativ für HBsAG, anti-HCV und anti-HIV 1 und 2. Keine bekannte Methode kann jedoch vollkommene Sicherheit liefern, dass menschliche Blutbestandteile nicht Hepatitis, AIDS oder andere Infektionen übertragen. Deshalb sollte der Umgang mit Reagenzien, Serum oder Plasmaproben in Übereinstimmung mit den Sicherheitsbestimmungen erfolgen.

Alle tierischen Produkte und deren Derivate wurden von gesunden Tieren gesammelt. Komponenten von Rindern stammen aus Ländern in denen BSE nicht nachgewiesen wurde.

Trotzdem sollten Komponenten, die tierische Substanzen enthalten, als potenziell infektiös betrachtet werden.

Vermeiden Sie Hautkontakt mit den Reagenzien (Natriumazid als Konservierungsmittel). Das Azid in diesem Kit kann mit Blei oder Kupfer in den Abflussrohren reagieren und so hochexplosive Metallazide bilden. Spülen Sie während der Waschstufen den Abfluss gründlich mit viel Wasser, um die Metallazidbildung zu verhindern.

Bitte rauchen, trinken, essen Sie nicht in Ihrem Arbeitsbereich, und verwenden Sie keine Kosmetika. Pipettieren Sie nicht mit dem Mund. Verwenden Sie Schutzkleidung und Wegwerfhandschuhe.

XVIII. LITERATUR

- GRAZE K., SPILER I.J., TASHIJAN A.H., MELVIN K.E.W., CERVI-SKINNER S., GAGEL R.F., MILLER H.H., WOLFE H.J., DELELLIS R.A., LEAPE L., FELDMAN Z.T. and REICHLIN S. (1978)
Natural history of familial medullary thyroid carcinoma; Effect of a program for early diagnosis.
Engl. J. Med., 299,18:980-985.
- HENNESSY J.F., WELLS S.A., ONTJES D.A. and COOPER C.W. (1974)
A comparison of pentagastrin injection and calcium infusion as provocative agents for the detection of medullary carcinoma of the thyroid.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 39:487-495.

- ROUGIER Ph., CALMETTES C., LAPLANCHE A., TRAVAGLI J.P., LEFEVRE M., PARMENTIER C., MILHAUD G. and TUBIANA M. (1983)
the values of calcitonin and carcinoembryonic antigen in the treatment and management of nonfamilial medullary thyroid carcinoma.
Cancer, 51,5:856-862.
- WALLACH S.R., ROYSTON I., TAETLE R., WOHL H. and DEFTOS L. (1981)
Plasma calcitonin as a marker of disease activity in patients with small cell carcinoma of the lung.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 53,3:602-606.
- WELLS S.A., BAYLIN S.B., LINEHAN W.M., FARRELL R.E., COX E.B. and COOPER C.W. (1978)
Provocative agents and the diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland.
Ann. Surg., 188,2:139-141.
- AURBACH G.D., MARX S.J. and SPIEGEL A.M. (1985)
Parathyroid hormone, calcitonin, and the calciferols.
In: Williams Textbook of endocrinology (7th edition; Wilson J.D. and Foster D.W. eds) W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1137-1217.
- BODY J.J. et al. (1987)
SCC antigen and other tumor markers in lung cancer: preliminary results.
Excerpta Medica, 162-170.
- ELIARD, P.H. (1989)
Evaluation of a highly sensitive two-site immunoradiometric assay (IRMA) for human calcitonin (hCT): comparison with the RIA's for hCT and for the carboxyl-terminal flanking peptide (PDN-21) of the hCT gene.
71th Annual meeting of the Endocrine Society, Seattle, Washington, Abst. N° 1800 p472.
- NICOLI P. et al. (1995)
Abnormal calcitonin basal levels and pentagastrin response in patients with chronic renal failure on maintenance hemodialysis.
Eur. J. Endocrinol. 132, 1, 75-81.
- PACINI F. et al. (1994)
Routine measurement of serum calcitonin in nodular disease allows the preoperative diagnosis of unsuspected sporadic medullary thyroid carcinoma.
J. Clin. Endocrinol. Metab. Excerpta Medica, 78, 4, 824-9.
- QUESADA J. M. et al. (1994)
Calcitriol corrects deficient calcitonin secretion in the Vit. D deficient elderly.
J. Bone Miner Res. 9, 1, 53-57.

XIX. ZUSAMMENFASSUNG DES PROTOKOLLS

	GESAMT-AKTIVITÄT (µl)	KALIBRATOREN (µl)	PROBE(N) (µl)
Kalibratoren (0-5)	-	200	-
Proben	-	-	200
Tracer	50	50	50
Inkubation	18 ± 1 Stunden bei 2-8°C		
Trennung	-	absaugen (oder dekant.)	
Waschlösung	-	2.0 ml	
Trennung	-	absaugen (oder dekant.)	
Waschlösung	-	2.0 ml	
Trennung	-	absaugen (oder dekant.)	
Gamma Counter	60 Sekunden messen		

DIAsource Katalognummer : KIP0429	Beipackzettelnummer: 1700541/de	Nummer der Originalausgabe: 120914/1
-----------------------------------	---------------------------------	--------------------------------------

Prima di utilizzare il kit leggere attentamente le istruzioni per l'uso

CT-U.S.-IRMA

I. USO DEL KIT

Kit radioimmunologico per la determinazione quantitativa in vitro della calcitonina umana in siero.

II. INFORMAZIONI DI CARATTERE GENERALE

- A. Nome commerciale:** DIAsource CT-U.S.-IRMA Kit
- B. Numero di catalogo:** KIP0429: 96 test
- C. Prodotto da:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgio.

Per informazioni tecniche o su come ordinare il prodotto contattare:

Tel: +32 (0)10 84.99.11

Fax: +32 (0)10 84.99.91

III. INFORMAZIONI CLINICHE

La calcitonina (CT) è un ormone polipeptidico a 32 amminoacidi secreto dalle cellule C parafollicolari della ghiandola tiroide sotto il controllo del calcio del siero. A seguito di una somministrazione acuta, tale peptide agisce come un potente ormone ipocalcemico e ipofosfatemico aumentando la capacità di clearance del calcio renale e riducendo il riassorbimento osseo. Tuttavia non è stato ancora pienamente compreso il preciso ruolo fisiologico da essa svolto nel metabolismo osseo.

Nei campioni di sangue è stato possibile riscontrare diverse forme di CT, incluso un monomero CT, un monomero ossidato, un dimero, forme ad elevato peso molecolare e possibili precursori della CT. La concentrazione di questi peptidi varia a seconda dello stato clinico, della funzione renale e dell'origine tissulare di CT (produzione normale o ectopica).

Il carcinoma tiroideo midollare (MTC) è un tumore maligno sviluppato dalle cellule C che comporta la secrezione di un notevole eccesso di calcitonina. Tale patologia si presenta in forma sporadica (80%) o familiare (20%) trasmessa come gene dominante autosomico o come componente di una neoplasia endocrina multipla (IIB).

Una moderata ipercalcitoninemia si riscontra inoltre in gravidanza, in caso di anemia perniciosa, disfunzione renale e durante il periodo neonatale. In questo dosaggio è stata preferibilmente rilevata la forma monomeric di CT.


La misurazione di CT tramite il presente IRMA viene utilizzata per:

- la diagnosi del carcinoma tiroideo midollare (MTC)
- il follow-up dei tumori maligni, al fine di verificare il successo dell'intervento chirurgico oppure per monitorare una recidiva
- la diagnosi dei casi preclinici di forme familiari di MTC (MEN II o sindrome di Sipple) utilizzando i test di stimolazione (calcio o pentagastrina)
- lo studio della fisiopatologia del fosfato di calcio e del metabolismo osseo.

IV. PRINCIPIO DEL METODO

Il kit DIASource Calcitonina U.S.-IRMA è un dosaggio immunoradiometrico con separazione coated tube. Esso utilizza gli anticorpi monoclonali antagonisti diretti contro gli epitopi distinti della calcitonina umana. L'anticorpo di cattura è adsorbito sulla superficie interna della parte inferiore della provetta di plastica. I calibratori e i campioni vengono dispensati nelle provette e legati all'anticorpo di cattura. Viene subito aggiunto l'anticorpo di segnale (con etichetta radiologica) e, dopo un'incubazione che consente la reazione immunologica, le provette vengono svuotate e lavate in modo da rimuovere l'anticorpo non legato in eccesso. La radioattività è direttamente proporzionale alla concentrazione di antigene iniziale nei calibratori e nei campioni.

V. REATTIVI FORNITI

Reattivi	Kit da 96 test	Codice colore	Volume di ricostituzione			
 Provette sensibilizzate con anticorpo anti CT (anticorpi monoclonali)	2 x 48	blu	Pronte per l'uso			
<table border="1" data-bbox="119 739 255 795"> <tr> <td>Ab</td> <td>¹²⁵I</td> </tr> </table> Marcato: anti-CT (Anticorpi monoclonali) marcati con ¹²⁵ I in tampone TRIS con BSA, sodio azide (<0.1%) e un colorante inerte rosso	Ab	¹²⁵ I	1 flacone 5,5 ml 720 kBq	Rosso	Pronto per l'uso	
Ab	¹²⁵ I					
<table border="1" data-bbox="119 896 255 952"> <tr> <td>CAL</td> <td>N</td> </tr> </table> Calibratore 0-5 (le concentrazioni esatte degli calibratore sono riportate sulle etichette dei flaconi), in siero bovino privo di calcitonina, contenente timolo e gentamicina	CAL	N	6 flaconi liofiliz.	Giallo	Aggiungere 1 ml di acqua distillata	
CAL	N					
<table border="1" data-bbox="76 1075 159 1131"> <tr> <td>SERUM</td> </tr> </table> Siero umano privo di CT (da utilizzare per la diluizione dei campioni) contenente timolo e gentamicina	SERUM	1 fiale liofiliz.	nero	Aggiungere acqua distillata (per il volume si veda l'etichetta)		
SERUM						
<table border="1" data-bbox="63 1220 319 1276"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> Tampone di lavaggio (TRIS HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 flacone 10 ml	Bruno	Diluire 70 x con acqua distillata usando un agitatore magnetico
WASH	SOLN	CONC				
<table border="1" data-bbox="103 1344 319 1400"> <tr> <td>CONTROL</td> <td>N</td> </tr> </table> Controlli: N = 1 o 2, in siero umano, contenente timolo e gentamicina	CONTROL	N	2 flaconi liofiliz.	Argento	Aggiungere 1 ml di acqua distillata	
CONTROL	N					

Note: 1. Usare siero umano privo di calcitonina per diluire i campioni.
2. 1 pg della preparazione standard è equivalente a 0,19 µIU 2nd IS 89/620.

VI. REATTIVI NON FORNITI

Il seguente materiale è richiesto per il dosaggio ma non è fornito nel kit.

1. Acqua distillata.
2. Pipette per dispensare 50 µl, 200 µl e 1 ml (Si raccomanda di utilizzare pipette accurate con puntale in plastica monouso).
3. Agitatore tipo vortex.
4. Agitatore magnetico.
5. Pipetta a ripetizione automatica 5 ml per i lavaggi.
6. Sistema di aspirazione dei campioni (facoltativo).
7. Contatore gamma con finestra per ¹²⁵I (efficienza minima 70%)

VII. PREPARAZIONE DEI REATTIVI

- A. **Calibratore:** Ricostituire i calibratori con 1 ml di acqua distillata.
- B. **Controlli:** Ricostituire i controlli con 1 ml di acqua distillata.
- C. **Siero privo di calcitonina:** Ricostituire il siero privo di calcitonina con acqua distillata. (per il volume si veda l'etichetta)
- D. **Soluzione di lavoro del tampone di lavaggio:** Preparare la quantità necessaria di soluzione di lavoro del tampone di lavaggio aggiungendo 69 parti di acqua distillata ad una parte di tampone di lavaggio concentrato (70 x). Usare un agitatore magnetico per rendere la soluzione omogenea. La soluzione di lavoro va scartata al termine della giornata.

VIII. CONSERVAZIONE E SCADENZA DEI REATTIVI

- I reattivi non utilizzati sono stabili a 2-8°C fino alla data riportata su ciascuna etichetta.
- Una volta eseguita la ricostituzione è necessario congelare i controlli e il siero privo di calcitonina subito dopo l'uso e conservarli a -20° C per 3 mesi. È consentito un solo ciclo di congelamento-scongelo, dopo il secondo utilizzo smaltire i calibratori, i controlli e il siero privo di calcitonina.
- La soluzione di lavoro del tampone di lavaggio deve essere preparata fresca ogni volta e usata nello stesso giorno della preparazione.
- Dopo apertura del flacone, il marcato è stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta, se conservato a 2-8°C nel flacone originale ben tappato.
- Alterazioni dell'aspetto fisico dei reattivi possono indicare una loro instabilità o deterioramento.

IX. RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Per questo dosaggio si consiglia l'uso di campioni di siero.

- Non usare campioni emolizzati.
- Non usare campioni lipemici.
- Se si sospetta o si è a conoscenza del fatto che un campione abbia una concentrazione superiore a quella del calibratore con valore massimo, è necessario diluire detto campione con il siero privo di CT al fine di riportarlo entro l'intervallo di misurazione.
- Nel caso in cui i campioni non vengano dosati nello stesso giorno del prelievo di sangue, è preferibile congelarli fino al dosaggio.
- È possibile scongelare i campioni una sola volta.
- In caso di test ripetuti, congelare i campioni in aliquote e smaltire ogni campione a seguito del primo scongelamento.

X. METODO DEL DOSAGGIO

A. Avvertenze generali

Non usare il kit o suoi componenti oltre la data di scadenza. Non mescolare reattivi di lotti diversi. Prima dell'uso portare tutti i reattivi a temperatura ambiente.

Mescolare delicatamente i campioni per inversione o rotazione. Per evitare cross-contaminazioni, cambiare il puntale della pipetta ogni volta che si usi un nuovo reattivo o campione.

L'uso di pipette ben tarate e ripetibili o di sistemi di pipettamento automatici migliora la precisione del dosaggio. Rispettare i tempi di incubazione.

Allestire una curva di taratura per ogni seduta analitica, in quanto non è possibile utilizzare per un dosaggio curve di taratura di sedute analitiche precedenti.

B. Metodo del dosaggio

1. Numerare le provette sensibilizzate necessarie per dosare in duplicato ogni standard, campione o controllo. Numerare 2 provette non sensibilizzate per la determinazione dell'attività totale.
2. Agitare brevemente su vortex standard, campioni e controlli. Dispensare 200 µl di standard, campioni e controlli nelle rispettive provette.
3. Dispensare 50 µl di marcato in tutte le provette.
4. Scuotere delicatamente il portaprovette per liberare eventuali bolle d'aria intrappolate nel liquido contenuto nelle provette.
5. Incubare 18 ± 1 ore a 2 - 8°C.
6. Aspirare (o decantare) il liquido contenuto in tutte le provette, tranne in quelle per l'attività totale, facendo attenzione che il puntale dell'aspiratore raggiunga il fondo delle provette e che aspiri tutto il liquido.
7. Lavare tutte le provette, tranne quelle per l'attività totale, con 2 ml di soluzione di lavoro di tampone di lavaggio, evitando di provocare la formazione di schiuma.
8. Aspirare (o decantare) il liquido contenuto in tutte le provette, tranne in quelle per l'attività totale.
9. Lavare nuovamente tutte le provette, tranne quelle per l'attività totale, con 2 ml di soluzione di lavoro di tampone di lavaggio e aspirare (o decantare).
10. Dopo il secondo lavaggio lasciare decantare le provette in posizione verticale per due minuti circa e aspirare eventuali gocce di liquido residue.
11. Contare tutte le provette per 1 minuto con il contatore gamma.

XI. CALCOLO DEI RISULTATI

1. Calcolare la media delle determinazioni in duplicato.
2. Costruire la curva di calibrazione su carta millimetrata semilogaritmica o lineare ponendo in ordinata le medie dei colpi per minuto (cpm) dei replicati degli standard e in ascissa le rispettive concentrazioni di CT.

3. Scartare i duplicati palesemente discordanti.
4. Determinare le concentrazioni e controlli per interpolazione sulla curva di taratura.
5. E' possibile utilizzare un sistema di interpolazione dati automatizzato. Con un sistema automatico di interpolazione dati, utilizzare la curva a 4 parametri.

XII. CARATTERISTICHE TIPICHE

I sotto riportati sono forniti a titolo di esempio e non devono essere utilizzati per calcolare le concentrazioni di insulina in campioni e controlli al posto della curva standard, che va eseguita per ogni dosaggio.

CT-US-IRMA		cpm	B/T (%)
Attività totale		306174	100
Calibratore	0 pg/ml	259	0,08
	8,2 pg/ml	1872	0,61
	17,0 pg/ml	4467	1,46
	44,8 pg/ml	11091	3,62
	154,0 pg/ml	39847	13,01
	674,0 pg/ml	148740	48,58

XIII. CARATTERISTICHE E LIMITI DEL METODO

A. Sensibilità

Venti replicati dello standard zero sono stati dosati insieme agli altri standard. La sensibilità, calcolata come concentrazione apparente di un campione con cpm pari alla media più 2 deviazioni standard di 20 replicati dello standard zero, è risultata essere 0,9 pg/ml.

B. Specificità

In questo dosaggio sono stati testati alcuni ormoni potenzialmente interferenti. A concentrazioni fino a 100 ng/ml, nessuno dei seguenti ormoni ha dimostrato di esercitare un'interferenza degna di nota:

- CGRP
- Calcitonina di salmone
- PDN 21
- Procalcitonina N terminale.

C. Precisione

INTRA SAGGIO				INTER SAGGIO			
Siero	N	<X> ± SD (pg/ml)	CV (%)	Siero	N	<X> ± SD (pg/ml)	CV (%)
A	10	76.1 ± 2.1	2.7	A	10	26.9 ± 2,5	9,3
B	10	337.4 ± 6.5	1.9	B	10	128,8 ± 6,0	4,6

SD : Deviazione Standard; CV: Coefficiente di Variazione

D. Accuratezza

TEST DI RECUPERO		
CT aggiunta (pg/ml)	CT Concentrazione misurata (pg/ml)	Recupero (%)
0		
6	6.1	101.7
15.5	16.0	103.2
48	48.5	101.0
142.5	138.7	97.3
500	517.7	103.5

TEST DI DILUIZIONE			
Diluizione	Concentrazione teorica (pg/ml)	Concentrazione misurata (pg/ml)	Recupero (%)
1/1		396.0	-
1/2	198.0	193.6	97.8
1/4	99.0	92.3	93.2
1/8	49.5	49.3	99.6
1/16	24.8	23.6	95.4
1/32	12.4	12.1	97.8
1/64	6.2	6.4	103.4

E. Effetto hook

Un campione di siero con una concentrazione di picco pari a 500.000 pg/ml di calcitonina sintetica dà un segnale superiore alla concentrazione massima di calibratore.

Nei campioni di siero contenenti fino a 16.500 pg/mL di calcitonina nativa non è stato osservato alcun effetto hook.

Si raccomanda di diluire i campioni superiori a 100 pg/mL con il siero umano privo di CT fornito insieme al kit. I campioni devono essere diluiti sequenzialmente 1:10.

Soggetti sani, pazienti affetti da carcinoma tiroideo midollare o da altre neoplasie presentano forme di calcitonina diverse dal punto di vista immunostochimico.

The size of these forms may vary from type to type and may therefore respond differently in immunoassays and dilution tests.

XIV. LIMITAZIONI

- Campioni di pazienti che abbiano assunto preparazioni a base di anticorpi monoclonali murini a scopo diagnostico o terapeutico potrebbero contenere anticorpi umani antimurini (HAMA). Tali campioni, quando testati con metodiche basate sull'impiego di anticorpi monoclonali murini, potrebbero produrre valori falsamente elevati o ridotti.
- Nell'esecuzione di tecniche di immunodosaggio in vitro, la presenza in campioni di siero umano di anticorpi eterofili che possono reagire con immunoglobuline reattive può dar luogo ad interferenze. Pazienti sistematicamente esposti al contatto con animali o con prodotti derivanti da siero animale possono essere oggetto di tale tipo di interferenza, con conseguente riscontro di risultati anomali in caso di presenza di anticorpi eterofili. Si raccomanda pertanto di valutare attentamente i risultati relativi ai pazienti con sospetta presenza di tale tipo di anticorpo. Qualora i risultati non fossero in linea con le altre osservazioni cliniche si renderà necessaria la raccolta di ulteriori informazioni prima della formulazione di una diagnosi.

XV. CONTROLLO DI QUALITA' INTERNO

- Se i risultati ottenuti dosando il Controllo 1 e il Controllo 2 non sono all'interno dei limiti riportati sull'etichetta dei flaconi, non è opportuno utilizzare i risultati ottenuti per i campioni, a meno che non si trovi una giustificazione soddisfacente. Ogni laboratorio può preparare un proprio pool di sieri da utilizzare come controllo, da conservare congelato in aliquote. Non congelare e scongelare un'aliquota più di due volte.
- I criteri di accettazione delle differenze tra i risultati in duplicato dei campioni devono basarsi sulla buona prassi di laboratorio.

XVI. INTERVALLI DI RIFERIMENTO

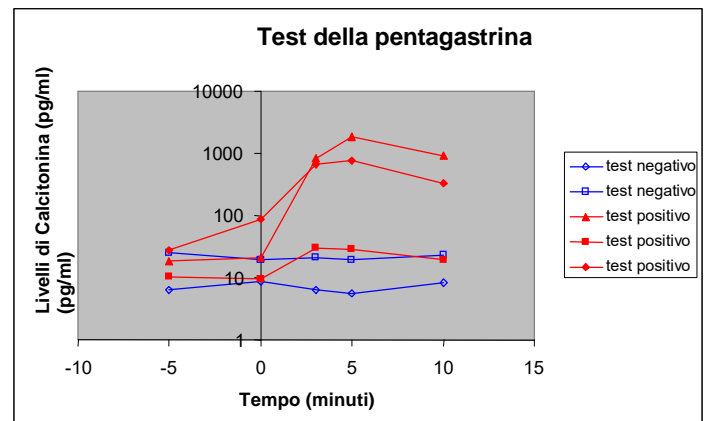
Valori normali

Questi valori vengono dati solo come guida; ogni laboratorio deve stabilire i propri intervalli normali di valori. Intervallo basati su 2,5% e 97,5% percentili.

Identificazione	N	Media (pg/ml)	SD (pg/ml)	Intervallo (pg/ml)
Maschi	94	5,7	2,3	1,9 - 9,6
Femmine	98	3,5	1,9	0,5 - 7,8
Totale	192	4,6	2,4	0,9 - 9,5

Test della pentagastrina:

Pazienti con bassi livelli basali di CT:



I pazienti affetti da carcinoma tiroideo midollare o da altre neoplasie maligne possono presentare un test di diluizione non lineare per il campione di calcitonina; ciò potrebbe essere dovuto a una forma modificata di calcitonina (polimeri e/o forme glicosilate) che non viene del tutto riconosciuta dai nostri anticorpi.

XVII. PRECAUZIONI PER L'USO

Sicurezza

Il kit è solo per uso diagnostico in vitro. Il kit contiene ¹²⁵I (emivita: 60 giorni) emettente raggi X (28 keV) e γ (35.5 keV) ionizzanti.

L'acquisto, a detenzione, l'utilizzo e il trasporto di materiale radioattivo sono soggetti a regolamentazione locale. In nessun caso il prodotto può essere somministrato ad esseri umani o animali.

Usare sempre guanti e camici da laboratorio quando si manipola materiale radioattivo. Le sostanze radioattive devono essere conservate in propri contenitori in appositi locali che devono essere interdetti alle persone non autorizzate. Deve essere tenuto un registro di carico e scarico del materiale radioattivo. Il materiale di laboratorio e la vetreria deve essere dedicato all'uso di isotopi specifici per evitare cross-contaminazioni.

In caso di contaminazione o dispersione di materiale radioattivo, fare riferimento alle norme locali di radioprotezione. I rifiuti radioattivi devono essere smaltiti secondo le norme locali di radioprotezione. Lo scrupoloso rispetto delle norme per l'uso di sostanze radioattive fornisce una protezione adeguata agli utilizzatori. I reattivi di origine umana presenti nel kit sono stati dosati con metodi approvati da organismi di controllo europei o da FDA e si sono rivelati negativi per HBs Ag, anti HCV, anti HIV1 e anti HIV2. Non sono disponibili metodi in grado di offrire la certezza assoluta che derivati da sangue umano non possano provocare epatiti, AIDS o trasmettere altre infezioni. Manipolare questi reattivi o i campioni di siero o plasma secondo le procedure di sicurezza vigenti.

Tutti i prodotti di origine animale o loro derivati provengono da animali sani. I componenti di origine bovina provengono da paesi dove non sono stati segnalati casi di BSE. E' comunque necessario considerare i prodotti di origine animale come potenziali fonti di infezioni.

Evitare ogni contatto dell'epidermide con i reattivi contenenti sodio azide come conservante. La sodio azide può reagire con piombo rame o ottone presenti nelle tubature di scarico per formare metallo-azidi esplosive. Smaltire questi reattivi facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi.

Nei luoghi dove si usano sostanze radioattive non è consentito consumare cibi o bevande, fumare o usare cosmetici. Non pipettare i reattivi con pipette a bocca.

XVIII. RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- GRAZE K., SPILER I.J., TASHIJAN A.H., MELVIN K.E.W., CERVI-SKINNER S., GAGEL R.F., MILLER H.H., WOLFE H.J., DELELLIS R.A., LEAPE L., FELDMAN Z.T. and REICHLIN S. (1978)
Natural history of familial medullary thyroid carcinoma; Effect of a program for early diagnosis.
Engl. J. Med., 299,18:980-985.
- HENNESSY J.F., WELLS S.A., ONTJES D.A. and COOPER C.W. (1974)
A comparison of pentagastrin injection and calcium infusion as provocative agents for the detection of medullary carcinoma of the thyroid.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 39:487-495.
- ROUGIER Ph., CALMETTES C., LAPLANCHE A., TRAVAGLI J.P., LEFEVRE M., PARMENTIER C., MILHAUD G. and TUBIANA M. (1983)
the values of calcitonin and carcinoembryonic antigen in the treatment and management of nonfamilial medullary thyroid carcinoma.
Cancer, 51,5:856-862.
- WALLACH S.R., ROYSTON I., TAETLE R., WOHL H. and DEFTOS L. (1981)
Plasma calcitonin as a marker of disease activity in patients with small cell carcinoma of the lung.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 53,3:602-606.
- WELLS S.A., BAYLIN S.B., LINEHAN W.M., FARRELL R.E., COX E.B. and COOPER C.W. (1978)
Provocative agents and the diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland.
Ann. Surg., 188,2:139-141.
- AURBACH G.D., MARX S.J. and SPIEGEL A.M. (1985)
Parathyroid hormone, calcitonin, and the calciferols.
In: williams Textbook of endocrinology (7th edition; Wilson J.D. and foster D.W. eds) W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1137-1217.
- BODY J.J. et al. (1987)

SCC antigen and other tumor markers in lung cancer: preliminary results.

Excerpta Medica, 162-170.

- ELIARD, P.H. (1989)
Evaluation of a highly sensitive two-site immunoradiometric assay (IRMA) for human calcitonin (hCT): comparison with the RIA's for hCT and for the carboxyl-terminal flanking peptide (PDN-21) of the hCT gene.
71th Annual meeting of the Endocrine Society, Seattle, Washington, Abst. N° 1800 p472.
- NICOLI P. et al. (1995)
Abnormal calcitonin basal levels and pentagastrin response in patients with chronic renal failure on maintenance hemodialysis.
Eur. J. Endocrinol. 132, 1, 75-81.
- PACINI F. et al. (1994)
Routine measurement of serum calcitonin in modular disease allows the preoperative diagnosis of unsuspected sporadic medullary thyroid carcinoma.
J. Clin. Endocrinol. Metab. Excerpta Medica, 78, 4, 824-9.
- QUESADA J. M. et al. (1994)
Calcitriol corrects deficient calcitonin secretion in the Vit. D deficient elderly.
J. Bone Miner Res. 9, 1, 53-57.

XIX. SCHEMA DEL DOSAGGIO

	Attività totale ml	Calibratore ml	Campioni Controlli ml
Calibratore (0 - 5)	-	200	-
Campioni, controlli	-	-	200
Marcato	50	50	50
Incubazione	18 ± 1 ora a 2-8°C		
Separazione			Aspirare
Soluzione di lavoro			2 ml
tampone di lavaggio			
Separazione			Aspirare
Soluzione di lavoro			2 ml
tampone di lavaggio			
Separazione			Aspirare
Conteggio	Contare le provette per 1 minuto		

Numero di catalogo di DIAsource : KIP0429	P.I. numero : 1700541/it	Revisione numero : 120914/1
--	-----------------------------	--------------------------------

Data di revisione : 2012-09-14

Leer el protocolo completo antes de usar.

CT-U.S.-IRMA

I. INSTRUCCIONES DE USO

Radioinmunoensayo para la determinación cuantitativa in vitro de la Calcitonina humana en suero.

II. INFORMACIÓN GENERAL

- A. **Nombre:** DIAsource CT-U.S.-IRMA Kit
- B. **Número de Catálogo:** KIP0429: 96 test
- C. **Fabricado por:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

Para cuestiones técnicas y información sobre pedidos contactar :
Tel : +32 (0)10 84.99.11 Fax : +32 (0)10 84.99.91

III. INFORMACIÓN CLÍNICA


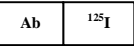

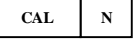


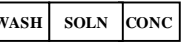



Calcitonina (CT) es una hormona peptídica de 32 aminoácidos segregada por las células C parafoliculares de la glándula tiroidea bajo control de calcio de suero. Después de una administración aguda este péptido se comporta como una hormona hipocalcémica y hipofosfatémica potente por el aumento de la liquidación del calcio renal y la reducción de la resorción ósea. No obstante, su papel fisiológico exacto en el metabolismo óseo ya no es completamente analizado. Varias formas de CT pueden encontrarse en muestras de sangre, incluyendo un monómero CT, un monómero oxidado, un dímero, formas con un peso molecular más elevado, y posiblemente precursor de CT. Las concentraciones de estos péptidos varían con la situación clínica, la función renal y el tejido de origen de CT (producción normal o ectópica). Carcinoma medular de tiroides (MTC) es un tumor maligno, producido por las células C, segregando excesivamente la calcitonina. Esta enfermedad aparece como una forma esporádica (80%) o familiar (20%), transmitida como un gene dominante autosomal o como un componente de neoplasia endocrina múltiple (IIb). Hipercalcetonemia moderada aparece también durante el embarazo, la anemia perniciosa, la deficiencia renal y durante el período neonatal. Preferentemente, la forma monómera de CT es analizada en este ensayo. La medición de CT por la IRMA actual se utiliza para:

- diagnóstico del carcinoma medular de tiroides (MTC)
- observación de tumores malignos, para controlar el éxito de la cirugía y la posibilidad de reanudación.
- diagnóstico de casos preclínicos de las formas familiares de MTC (MEN II o síndrome de Sipple) por el uso de ensayos estimulantes (calcio o pentagastrina)
- análisis de la patofisiología del metabolismo calcio-fosfático y óseo.

IV. PRINCIPIOS DEL MÉTODO

DIASource Calcitonina-U.S. IRMA es un radioinmunoensayo basado en la separación en tubo recubierto de anticuerpos. Utiliza anticuerpos monoclonales dirigidos contra varios epítomos de la Calcitonina humana. El anticuerpo de captura se adhiere en la parte interior inferior de las paredes de un tubo de poliestireno. Calibradores y muestras son dispensadas en los tubos y fijados al anticuerpo de captura. El anticuerpo señal (radiomarcado) es añadido inmediatamente y después de una incubación que permite la reacción inmunológica, los tubos son vaciados y lavados para expulsar el anticuerpo libre excesivo. La radiactividad adherida a los tubos es directamente proporcional a la concentración inicial del antígeno en los calibradores y las muestras.

V. REACTIVOS SUMINISTRADOS

Reactivos	96 test Kit	Código de Color	Reconstitución
 Tubos recubiertos con anti CT (anticuerpos monoclonales)	2 x 48	azul	Listo para uso
 Ab  ¹²⁵ I TRAZADOR: anti-CT (anticuerpos monoclonales) marcado con I ¹²⁵ en tampón TRIS con albúmina bovina, azida (<0.1%) y un colorante rojo inerte	1 vial 5,5 ml 720 kBq	rojo	Listo para uso
 CAL  N Calibradores N = 0 a 5 (mirar los valores exactos en las etiquetas) en suero humano sin Calcitonina con gentamicina y thymol	6 viales liofilizados	amarillo	Añadir 1 ml de agua destilada
 SERUM Suero humano sin CT (utilizar para dilución de las muestras) con gentamicina y thymol	1 vial liofil.	negro	Añadir agua destilada (mirar el volumen en la etiqueta)
 WASH  SOLN CONC Solución de lavado (Tris-HCl)	1 vial 10 ml	marrón	Diluir 70 x con agua destilada (utilizar agitador magnético)
 CONTROL  N Controles - N = 1 o 2 en suero humano, thymol y gentamicina	2 viales liofilizados	plateado	Añadir 1 ml de agua destilada

Nota: 1. Para diluciones de muestras utilizar suero humano sin CT.
2. 1 pg de la preparación del calibrador es equivalente a 0,19 μ UI 2nd IS 89/620.

VI. MATERIAL NO SUMINISTRADO

El material mencionado a continuación es necesario y no esta incluido en el kit

1. Agua destilada
2. Pipetas de 50 μ l, 200 μ l y 1 ml (Se recomienda el uso de pipetas precisas con puntas desechables de plástico)
3. Vortex
4. Agitador magnético
5. Jeringa automática 5 ml (tipo Cornwall) para el lavado
6. Sistema de aspiración (opcional)
7. Contador de radiaciones gamma para medir I¹²⁵ (mínima eficiencia 70%)

VII. PREPARACIÓN DE REACTIVOS

A. Calibradores: Reconstituir los calibradores con 1 ml de agua destilada.
B. Controles: Reconstituir los controles con 1ml de agua destilada.
C. Suero sin CT: Reconstituir el suero sin CT con agua destilada. (mirar el volumen en la etiqueta)
D. Solución de lavado de trabajo: Preparar el volumen necesario de Solución de lavado de trabajo mezclando 69 partes de agua destilada por 1 parte de Solución de lavado (70x). Utilizar un agitador magnético para homogeneizar. Desechar la solución de lavado de trabajo no utilizada al final del día.

VIII. ALMACENAJE Y CADUCIDADES DE LOS REACTIVOS

- Antes de abrir ó reconstituir todos los componentes de los kits son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, si se guardan a 2-8°C.
- Después de su reconstitución los calibradores, las muestras, los controles y el suero sin CT deben ser congelados inmediatamente después del primer uso y guardados a -20°C durante 3 meses. Un solo ciclo de congelar y descongelar es permitido; desechar los calibradores, los controles y el suero sin CT después del segundo uso.
- La solución de lavado de trabajo recién preparada solo debe utilizarse en el mismo día.
- Después del primer uso, el trazador es estable hasta la fecha de caducidad, si se guarda en el vial original cerrado a 2-8°C.
- Las alteraciones de los reactivos en el aspecto físico pueden indicar inestabilidad ó deterioro.

IX. RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Muestras de suero son recomendados para este ensayo.

- No utilizar muestras hemolíticas.
- No utilizar muestras lipémicas.
- Si se conoce o se espera que una muestra tiene una concentración más elevada que la del calibrador más elevado, debe ser diluido con el suero sin CT a fin de caer dentro del rango de medida.
- Si las muestras no son analizadas el mismo día que se hace la colecta de l a sangre, es recomendable que sean congeladas hasta el ensayo.
- Descongelar las muestras una sola vez.
- Para ensayos repetidos, congelar y alícuotar las muestras y desechar cada muestra después de la primera vez que se descongela.

X. PROTOCOLO

A. Notas de manejo

No utilizar el kit ó componentes después de la fecha de caducidad. No mezclar reactivos de diferente numero de lote. Llevar todos los reactivos a temperatura ambiente antes de su uso.
Agitar minuciosamente todos los reactivos y muestras, agitándolos o girándolos suavemente. Con el fin de evitar ninguna contaminación utilizar puntas de pipetas desechables y limpias para la adición de cada reactivo y muestra.
El uso de pipetas de precisión ó equipamiento de dispensación automática mejorara la precisión. Respetar los tiempos de incubación.
Preparar la curva de calibración en cada ensayo, no utilizar los datos de un ensayo previo.

B. Protocolo

1. Marcar los tubos recubiertos por duplicado para cada uno de los estándares, muestras y controles. Para la determinación de las Cuentas Totales, marcar 2 tubos normales.
2. Homogeneizar los calibradores, muestras y controles y dispensar 200 μ l de cada uno en sus respectivos tubos.
3. Añadir 50 μ L del trazador en cada tubo, incluyendo los tubos destinados a las Cuentas Totales.
4. Agitar suavemente la gradilla de tubos.
5. Incubar durante 18 \pm 1 horas a 2 - 8°C.
6. Aspirar el contenido de cada tubo (excepto los de Cuentas Totales). Asegurarse que la punta de la pipeta de aspiración toca el fondo del tubo con el fin de aspirar todo el líquido.
7. Lavar los tubos 2 veces con 2 ml de Solución de lavado de trabajo (excepto los de Cuentas Totales) y aspirar. Evitar la formación de espuma durante la adición de la Solución de lavado. En el lavado manual, primero aspirar la capa de espuma y después el líquido. La exactitud aumenta con una aspiración suplementaria 2 minutos después de vaciar el último tubo.
8. Medir la actividad de cada tubo durante 60 segundos en un Contador Gamma.

XI. CALCULO DE RESULTADOS

1. Calcular la media de los duplicados.
2. Representar en un gráfico semilogarítmico o lineal las c.p.m. (ordenada) para cada calibrador frente a las concentraciones de CT (abscisa) y dibujar una curva de calibración por los puntos de calibración, rechazando los puntos externos.
3. Leer la concentración para cada control y muestra por interpolación en la curva de calibración.
4. Métodos computarizados de computación de resultados pueden ser utilizados para la construcción de la curva de calibración. Si se utiliza un sistema automático de calculo de resultados, se recomienda usar la representación gráfica " 4 parámetros".

XII. EJEMPLO DE RESULTADOS

Los datos mostrados a continuación sirven como ejemplo y nunca deberán ser usados como una calibración real.

CT-US-IRMA		cpm	B/T (%)
Cuentas Totales		306174	100
Calibrador	0 pg/ml	259	0,08
	8,2 pg/ml	1872	0,61
	17,0 pg/ml	4467	1,46
	44,8 pg/ml	11091	3,62
	154,0 pg/ml	39847	13,01
	674,0 pg/ml	148740	48,58

XIII. REALIZACIÓN Y LIMITACIONES

A. Limite de detección

Veinte calibradores cero fueron medidos en una curva con otros calibradores.

El limite de detección, definido como la concentración aparente resultante de dos desviaciones estándares encima de la media de enlace del calibrador cero, fue de 0,9 pg/ml.

B. Especificidad

Unas hormonas que podrían interferir han sido analizadas en este ensayo. Con concentraciones hasta 100 ng/ml, ninguna de las hormonas siguientes presentó una interferencia importante:

- CGRP
- Calcitonina de salmón
- PDN 21
- Procalcitonina N terminal.

C. Precisión

PRECISIÓN INTRA-ENSAYO

PRECISIÓN INTER-ENSAYO

Suero	N	<X> ± SD (pg/ml)	CV (%)	Suero	N	<X> ± SD (pg/ml)	CV (%)
A	10	76.1 ± 2.1	2.7	A	10	26.9 ± 2,5	9,3
B	10	337.4 ± 6.5	1.9	B	10	128.8 ± 6,0	4,6

SD : Desviación Estándar; CV: Coeficiente de Variación

D. Exactitud

TEST DE RECUPERACIÓN

CT añadido (pg/ml)	CT Concent. Medida (pg/ml)	Recuperado (%)
0		
6	6,1	101.7
15.5	16.0	103.2
48	48.5	101.0
142.5	138.7	97.3
500	517.7	103.5

TEST DILUCIÓN

Dilución	Concent. Teórica (pg/ml)	Concent. Medida (pg/ml)	Recuperado (%)
1/1		396.0	-
1/2	198.0	193.6	97.8
1/4	99.0	92.3	93.2
1/8	49.5	49.3	99.6
1/16	24.8	23.6	95.4
1/32	12.4	12.1	97.8
1/64	6.2	6.4	103.4

E. Efecto "hook"

Una muestra de suero con una concentración aumentada de calcitonina sintética de 500.000 pg/ml produce una señal por sobre la concentración más alta del calibrador.

No se observó el efecto hook en muestras de suero que contenían hasta 16500 pg/mL de calcitonina nativa.

Se recomienda diluir las muestras que contienen más de 100 pg/mL con suero humano sin CT que se provee en el kit. Las muestras deben ser diluidas en forma secuencial 1:10.

Los sujetos sanos, los pacientes con carcinoma medular tiroideo u otros tumores presentan diferentes formas inmunoquímicas de calcitonina. El tamaño de estas formas puede variar de un tipo a otro y por lo tanto puede comportarse de una manera distinta en inmunoensayos y pruebas de dilución.

XIV. LIMITACIONES

- Es posible que las muestras de pacientes que han recibido preparaciones de anticuerpos monoclonales de ratón para diagnóstico o terapia, puedan contener anticuerpos humanos anti ratón (HAMA). Los resultados de estas muestras analizadas con kits que utilizan anticuerpos monoclonales de ratón, pueden dar valores falsamente aumentados o disminuidos.
- Los anticuerpos heterófilos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas que forman parte del reactivo, interfiriendo con los inmunoensayos in vitro. Pacientes que en forma rutinaria están en contacto con animales o productos derivados de suero animal, pueden tender a presentar esta interferencia y se pueden observar valores anómalos en caso de haber presencia de anticuerpos heterófilos. Evalúe cuidadosamente los resultados de aquellos pacientes sospechosos de tener estos anticuerpos. Si los resultados no concuerdan con otras observaciones clínicas, será necesario obtener información adicional antes de hacer un diagnóstico.

XV. CONTROL DE CALIDAD INTERNO

- Si los resultados obtenidos para el Control 1 y/o Control 2 no están dentro del rango especificado en la etiqueta del vial, los resultados obtenidos no podrán ser utilizados a no ser que se pueda dar una explicación convincente de dicha discrepancia
- Si es conveniente, - cada laboratorio puede utilizar sus propios pools de controles, los cuales se guardan en alícuotas congeladas. No congelar y descongelar más de dos veces.
- Los criterios de aceptación de la diferencia entre los duplicados de las muestras se apoyan en las prácticas de laboratorio corrientes.

XVI. INTERVALOS DE REFERENCIA

Valores normales

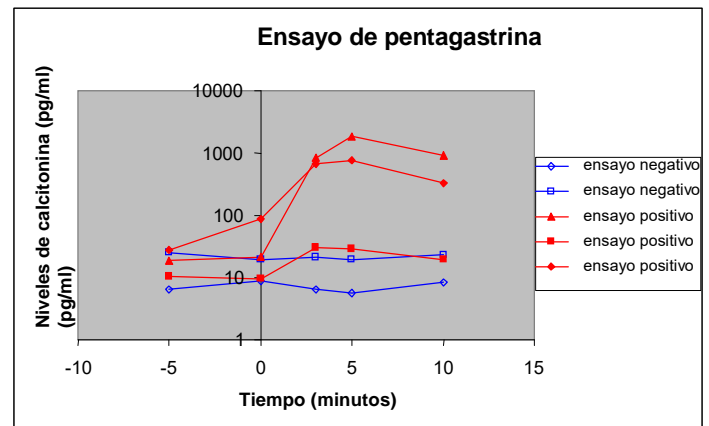
Estos valores solamente sirven de pauta; cada laboratorio tiene que establecer sus propios valores normales.

Alcance basados en percentiles de 2,5% & 97,5%.

Identificación	N	Media (pg/ml)	SD (pg/ml)	Alcance (pg/ml)
Hombres	94	5,7	2,3	1,9 - 9,6
Mujeres	98	3,5	1,9	0,5 - 7,8
Todos	192	4,6	4,6	0,9 - 9,5

Ensayo de pentagastrina:

Pacientes con niveles básicos de CT bajos:



Los pacientes con carcinoma medular tiroideo y pacientes con otros tumores malignos pueden producir una prueba de dilución no lineal en la muestra para calcitonina; esto puede deberse a una forma modificada de calcitonina (polímeros y/o formas glicosiladas) que no son reconocidas en su totalidad por nuestros anticuerpos.

XVII. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

Seguridad

Para uso solo en diagnóstico in vitro.

Este kit contiene I^{125} (vida media : 60 días) emisor de rayos X (28 keV) y de rayos γ (35.5 keV) ionizantes.

Este producto radiactivo solo puede ser manejado y utilizado por personas autorizadas; la compra, almacenaje, uso y cambio de productos radiactivos están sujetos a la legislación del país del usuario. En ningún caso el producto deberá ser suministrado a humanos y animales.

Todo el manejo de producto radiactivo se hará en una área señalizada, diferente de la de paso regular. Deberá de utilizarse un libro de registros de productos radiactivos utilizados. El material de laboratorio, vidrio que podría estar contaminado radiactivamente deberá de descontaminarse para evitar la contaminación con otros isótopos.

Cualquier derramamiento radiactivo deberá ser limpiado de inmediato de acuerdo con los procedimientos de seguridad. Los desperdicios radiactivos deberán ser almacenados de acuerdo con las regulaciones y normativas vigentes de la legislación a la cual pertenezca el laboratorio. El ajustarse a las normas básicas de seguridad radiológica facilita una protección adecuada.

Los componentes de sangre humana utilizados en este kit han sido testados por métodos aprobados por la CEE y/o la FDA dando negativo a HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 y 2. No se conoce ningún método que asegure que los derivados de la sangre humana no transmitan hepatitis, SIDA ó otras infecciones. Por lo tanto el manejo de los reactivos y muestras se hará de acuerdo con los procedimientos de seguridad locales.

Todos los productos animales y derivados han sido obtenidos a partir de animales sanos. Componentes bovinos originales de países donde BSE no ha sido informado. Sin embargo, los componentes conteniendo sustancias animales deberán ser consideradas como potencialmente infecciosas.

Evitar cualquier contacto de los reactivos con la piel (azida sódica como conservante). La azida en este kit puede reaccionar con el plomo y cobre de las cañerías y producir azidas metálicas altamente explosivas. Durante el proceso de lavado, hacer circular mucha cantidad de agua por el sumidero para evitar el almacenamiento de la azida.

No fumar, beber, comer ó utilizar cosméticos en el área de trabajo. No pipetear con la boca. Utilizar ropa de protección y guantes.

XVIII. BIBLIOGRAFIA

- GRAZE K., SPILER I.J., TASHIJAN A.H., MELVIN K.E.W., CERVI-SKINNER S., GAGEL R.F., MILLER H.H., WOLFE H.J., DELELLIS R.A., LEAPE L., FELDMAN Z.T. and REICHLIN S. (1978)
Natural history of familial medullary thyroid carcinoma; Effect of a program for early diagnosis.
Engl. J. Med., 299,18;980-985.
- HENNESSY J.F., WELLS S.A., ONTJES D.A. and COOPER C.W. (1974)
A comparison of pentagastrin injection and calcium infusion as provocative agents for the detection of medullary carcinoma of the thyroid.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 39:487-495.
- ROUGIER Ph., CALMETTES C., LAPLANCHE A., TRAVAGLI J.P., LEFEVRE M., PARMENTIER C., MILHAUD G. and TUBIANA M. (1983)
the values of calcitonin and carcinoembryonic antigen in the treatment and management of nonfamilial medullary thyroid carcinoma.
Cancer, 51,5:856-862.
- WALLACH S.R., ROYSTON I., TAETLE R., WOHL H. and DEFTOS L. (1981)
Plasma calcitonin as a marker of disease activity in patients with small cell carcinoma of the lung.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 53,3:602-606.
- WELLS S.A., BAYLIN S.B., LINEHAN W.M., FARRELL R.E., COX E.B. and COOPER C.W. (1978)
Provocative agents and the diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland.
Ann. Surg., 188,2:139-141.
- AURBACH G.D., MARX S.J. and SPIEGEL A.M. (1985)
Parathyroid hormone, calcitonin, and the calciferols.
In: williams Textbook of endocrinology (7th edition; Wilson J.D. and foster D.W. eds) W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1137-1217.
- BODY J.J. et al. (1987)
SCC antigen and other tumor markers in lung cancer: preliminary results.
Excerpta Medica, 162-170.

- ELIARD, P.H. (1989)
Evaluation of a highly sensitive two-site immunoradiometric assay (IRMA) for human calcitonin (hCT): comparison with the RIA's for hCT and for the carboxyl-terminal flanking peptide (PDN-21) of the hCT gene.
71th Annual meeting of the Endocrine Society, Seattle, Washington, Abst. N° 1800 p472.
- NICOLI P. et al. (1995)
Abnormal calcitonin basal levels and pentagastrin response in patients with chronic renal failure on maintenance hemodialysis.
Eur. J. Endocrinol. 132, 1, 75-81.
- PACINI F. et al. (1994)
Routine measurement of serum calcitonin in modular disease allows the preoperative diagnosis of unsuspected sporadic medullary thyroid carcinoma.
J. Clin. Endocrinol. Metab. Excerpta Medica, 78, 4, 824-9.
- QUESADA J. M. et al. (1994)
Calcitriol corrects deficient calcitonin secretion in the Vit. D deficient elderly.
J. Bone Miner Res. 9, 1, 53-57.

XIX. RESUMEN DEL PROTOCOLO

	CUENTAS TOTALES (μ l)	CALIBRADO RES (μ l)	MUESTRA(S) CONTROL(S) (μ l)
Calibradores (0 al 5)	-	200	-
Muestras, controles	-	-	200
Trazador	50	50	50
Incubación	18 \pm 1 horas a 2-8°C		
Separación	-	-	aspirar
Solución de Lavado	-	-	2,0 ml
Separación	-	-	aspirar
Solución de Lavado	-	-	2,0 ml
Separación	-	-	aspirar
Contaje	Contar los tubos durante 60 segundos		

DIAsource Catalogo Nr : KIP0429	P.I. Numero : 1700541/es	Revisión nr : 120914/1
------------------------------------	-----------------------------	---------------------------

Fecha de la revisión : 2012-09-14

Leia todo o protocolo antes de utilizar.

CT-U.S.-IRMA

I. UTILIZAÇÃO PREVISTA

Kit para ensaio imunoradiométrico (IRMA) para a determinação quantitativa *in vitro* da Calcitonina humana no soro.

II. INFORMAÇÃO GERAL

- A. **Nome do proprietário :** DIAsource CT-U.S.-IRMA Kit
- B. **Nº de catálogo :** KIP0429: 96 testes
- C. **Produzido por :** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

**Para assistência técnica ou encomendas, contacte:
Tel : +32 (0)10 84 99 11 - Fax : +32 (0)10 84 99 91**

III. FUNDAMENTAÇÃO CLÍNICA

A calcitonina (CT) é um polipeptídeo de 32 aminoácidos segregado pelas células parafoliculares (células C) da tiróide, sob o controlo dos níveis séricos de cálcio. Após uma administração aguda, este peptído actua como uma potente hormona hipocalcémica e hipofosfatémica, aumentando a excreção de cálcio renal e reduzindo a reabsorção óssea. No entanto, o seu papel fisiológico preciso no metabolismo ósseo ainda não é completamente conhecido.

Podem ser detectadas várias formas de CT em amostras de sangue, incluindo um monómero de CT, um monómero oxidante, um dímero, formas de elevado peso molecular e, possivelmente, precursoras da CT. As concentrações destes peptídeos variam consoante o estado clínico, a função renal e a origem tecidual da CT (produção normal ou ectópica).

O carcinoma modular da tiróide (MTC) é um tumor maligno, desenvolvido a partir das células C, segregando calcitonina em grande excesso. Esta doença ocorre, quer de forma esporádica (80%), quer familiar (20%), sendo transmitida como um gene autosómico dominante ou como um componente de neoplasia endócrina múltipla (IIb).

É, também, observada hipercalcitoninemia moderada na gravidez, anemia perniciososa, insuficiência renal e durante o período neonatal. Preferencialmente, a forma monomérica da CT é detectada neste ensaio.












A determinação da CT pelo presente IRMA é utilizada para:

- o diagnóstico do carcinoma medular da tiróide (MTC)
- o acompanhamento de tumores malignos, para verificar o êxito da cirurgia e para controlar a recorrência
- o diagnóstico de casos pré-clínicos de familiares de MTC (MEN II ou síndrome de Sipple) através da utilização de testes de estimulação (cálcio ou pentagastrina)
- o estudo da patofisiologia do metabolismo do cálcio-fosfato e do metabolismo ósseo.

IV. PRINCÍPIOS DO MÉTODO

O DIAsource Calcitonin-U.S. IRMA é um ensaio imunoradiométrico com base na separação no tubo revestido. Emprega anticorpos monoclonais direccionados contra epitopos distintos da Calcitonina humana. O anticorpo de captura é ligado à superfície interna inferior de um tubo de plástico. Os calibradores e as amostras são dispensados para dentro dos tubos e ligados ao anticorpo de captura. O anticorpo de sinal (rádio-rotulado) é imediatamente adicionado e, após uma incubação que permite uma reacção imunológica, os tubos são esvaziados e lavados para remover o excesso de anticorpos não ligados. A radioactividade ligada aos tubos é directamente proporcional à concentração inicial de antígenos nos calibradores e nas amostras.

V. REAGENTES FORNECIDOS

Reagentes	Kit 96 testes	Código de cor	Reconstituição
 Tubos revestidos com anti CT (Acs monoclonais)	2 x 48	azul	Pronto a utilizar
  Marcador: anti-CT marcado com ¹²⁵ I (Acs monoclonais) em tampão TRIS com soro bovino, albumina, azida (<0.1%) e corante inerte	1 recipiente 5,5 ml 720 kBq	vermelho	Pronto a utilizar
  Calibrador - N = 0 a 5 (ver valores exactos nos rótulos dos recipientes) em soro humano sem calcitonina (CT), gentamicina e timol	6 recipientes liofilizados	amarelo	Adicione 1 ml de água destilada
 Soro humano sem CT (a utilizar na diluição de amostras) com gentamicina e timol	1 recipiente liofil.	preto	Adicione água destilada (ver o volume no rótulo)
   Solução de lavagem (Tris-HCl)	1 recipiente 10 ml	castanho	Dilua 70 x com água destilada (use um agitador magnético).
  Controlos - N = 1 ou 2 Em soro humano, gentamicina e timol	2 recipientes liofilizados	prateado	Adicione 1 ml de água destilada

Note: 1. Use soro humano sem CT para as diluições de amostras.
2. 1 pg da preparação padrão é equivalente a 0,19 μ IU 2nd IS 89/620.

VI. MATERIAL NÃO FORNECIDO

O seguinte material é necessário, mas não fornecido com o kit:

- Água destilada
- Pipetas automáticas de: 50 μ l, 200 μ l e 1 ml (recomenda-se o uso de pipetas adequadas com pontas descartáveis de plástico)
- Misturador vortex
- Agitador magnético
- Seringa automática de 5 ml (tipo Cornwall) para lavagem
- Sistema de aspiração (opcional)
- Qualquer contador gama com capacidade para medir ¹²⁵I pode ser utilizado (alcance mínimo 70%).

VII. PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

- Calibradores:** Reconstitua os calibradores com 1 ml de água destilada
- Controlos:** Reconstitua os controlos com 1 ml de água destilada.
- Soro sem CT:** Reconstitua o soro sem CT com água destilada. (ver o volume no rótulo)
- Solução de Lavagem de Trabalho:** Prepare um volume adequado de Solução de Lavagem de Trabalho, adicionando 69 volumes de água destilada a 1 volume de solução de lavagem (70x). Use um agitador magnético para homogeneizar. Elimine a solução de lavagem não utilizada no final do dia.

VIII. CONSERVAÇÃO E PRAZO DE VALIDADE DOS REAGENTES

- Antes de serem abertos ou reconstituídos, todos os componentes do kit são estáveis até ao final do prazo de validade, indicado no rótulo, desde que mantidos entre 2-8°C.
- Após a reconstituição, os calibradores, controlos e o soro sem CT deverão ser imediatamente congelados após a utilização e mantidos a -20°C durante 3 meses. É permitido apenas um ciclo de congelamento/descongelamento. Elimine os calibradores, controlos e soro sem CT após a segunda utilização.
- A Solução de Lavagem de Trabalho recentemente preparada deve ser utilizada no mesmo dia.
- Após a 1ª utilização, o marcador mantém-se estável até ao final do prazo de validade, desde que mantido no recipiente original, bem fechado, entre 2 a 8°C.
- As alterações na aparência física dos reagentes do kit podem indicar instabilidade ou degradação.

IX. RECOLHA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Para este ensaio, são recomendadas amostras de soro.

- Não utilize amostras hemolisadas.
- Não utilize amostras lipémicas.
- Se se souber ou se considerar que uma amostra terá uma concentração acima do maior calibrador, esta terá de ser diluída com o soro sem CT para ficar dentro do intervalo de medição.
- Se as amostras não forem analisadas no mesmo dia da colheita de sangue, é aconselhável congelá-las até à altura do ensaio.
- As amostras só podem ser descongeladas uma vez.
- Para repetir o teste, congele-as em alíquotas e elimine cada amostra após o primeiro descongelamento.

X. PROCEDIMENTO

A. Notas de manipulação

Não utilize o kit ou os seus componentes após a expiração do prazo de validade. Não misture componentes de lotes diferentes. Antes da utilização, todos os reagentes devem estar à temperatura ambiente. Misture completamente os reagentes e as amostras com agitação ou rotação suaves. Para evitar contaminações cruzadas, use uma pipeta com ponta descartável para a adição de cada reagente e amostra. As pipetas de precisão elevada ou a pipetagem automática aumentam a precisão. Respeite os tempos de incubação. Prepare uma curva padrão para cada análise e não utilize dados de análises anteriores.

B. Procedimento

- Rotule os tubos revestidos em duplicado para cada calibrador, amostra e controlo. Para a determinação de contagens totais, rotule 2 tubos normais.
- Misture por breves momentos no misturador vortex calibradores, amostras, controlos e dispense 200 μ l de cada para os tubos respectivos.
- Dispense 50 μ l de marcador para cada tubo.
- Agite manualmente o tabuleiro (rack) que contém os tubos.
- Incube durante 18 ± 1 h à 2 - 8°C.
- Aspire (ou decante) o conteúdo de cada tubo (excepto as contagens totais). Certifique-se que a ponta de plástico do aspirador atinge o fundo do tubo revestido, para remoção de todo o líquido.
- Lave os tubos com 2 ml de Solução de Lavagem de Trabalho (excepto as contagens totais). Evite a formação de espuma durante a adição de Solução de Lavagem de Trabalho
- Aspire (ou decante) o conteúdo de cada tubo (excepto as contagens totais).
- Lave novamente os tubos com 2 ml da Solução de Lavagem de Trabalho (excepto as contagens totais) e aspire (ou decante).
- Após a última lavagem, deixe os tubos na posição vertical durante 2 minutos e aspire até à última gota de líquido.
- Conte os tubos no contador gama durante 60 segundos.

XI. CÁLCULO DOS RESULTADOS

- Calcule a média das determinações em duplicado.
- Em papel semilogarítmico ou de gráfico linear desenhe o c.p.m. (ordenadas para cada padrão contra a concentração correspondente de CT (abcissas) e desenhe uma curva padrão (de calibração) através dos pontos padrão e rejeite os pontos aberrantes óbvios.
- Leia a concentração para cada controlo e amostra por interpolação na curva de calibração.
- A redução dos dados através de computador simplificará estes cálculos. Se o processamento dos resultados for automático, é recomendado um ajustamento de curvas de função logística de 4 parâmetros.

XII. DADOS TÍPICOS

Os dados seguintes servem apenas como exemplo e nunca devem ser utilizados em vez da curva de calibração executada em tempo real.

CT-US-IRMA		cpm	B/T (%)
Contagem Total		306174	100
Calibrador	0 pg/ml	259	0,08
	8,2 pg/ml	1872	0,61
	17,0 pg/ml	4467	1,46
	44,8 pg/ml	11091	3,62
	154,0 pg/ml	39847	13,01
	674,0 pg/ml	148740	48,58

XIII. DESEMPENHO E LIMITAÇÕES

A. Limite de detecção

Foram analisados 20 calibradores zero juntamente com outros calibradores.

O limite de detecção, definido como a concentração aparente dois desvios padrão acima da média de contagem com zero ligações, foi de 0,9 pg/ml.

B. Especificidade

Algumas hormonas potencialmente interferentes foram testadas neste ensaio. Em concentrações até 100 ng/ml, nenhuma das seguintes hormonas demonstrou uma interferência significativa:

- CGRP
- Calcitonina de salmão
- PDN 21
- Procalcitonina N terminal.

C. Precisão

INTRA-ENSAIO				INTER-ENSAIO			
Soro	N	<X> ± SD (pg/ml)	CV (%)	Soro	N	<X> ± SD (pg/ml)	CV (%)
A	10	76,1 ± 2,1	2,7	A	10	26,9 ± 2,5	9,3
B	10	337,4 ± 6,5	1,9	B	10	128,8 ± 6,0	4,6

DP : Desvio Padrão; CV: Coeficiente de variação

D. Exactidão

TESTE DE RECUPERAÇÃO

CT Adicionado (pg/ml)	CT Conc. medida (pg/ml)	Recuperação (%)
0		
6	6,1	101,7
15,5	16,0	103,2
48	48,5	101,0
142,5	138,7	97,3
500	517,7	103,5

TESTE DE DILUIÇÃO

Diluição	Conc. teórico. (pg/ml)	Conc. medida (pg/ml)	Recuperação (%)
1/1		396,0	-
1/2	198,0	193,6	97,8
1/4	99,0	92,3	93,2
1/8	49,5	49,3	99,6
1/16	24,8	23,6	95,4
1/32	12,4	12,1	97,8
1/64	6,2	6,4	103,4

E. Efeito "Hook"

Uma amostra de soro com concentração fortalecida de 500,000 pg/ml de calcitonina fornece um sinal acima da concentração mais elevada de calibrador.

Não foi observado efeito "Hook" em amostras de soro contendo até 16500 pg/ml de calcitonina nativa.

Recomenda-se diluir as amostras com mais de 100 pg/ml com soro humano isento de CT fornecido no kit. As amostras devem ser diluídas sequencialmente 1:10.

Os indivíduos saudáveis e os doentes com carcinoma medular da tiróide ou outros tumores apresentam formas imunológicas diferentes de calcitonina.

O tamanho destas formas pode variar conforme o tipo e pode portanto responder de maneira diferente em imunossaios e testes de diluição.

XIV. LIMITAÇÕES

- Amostras de pacientes que receberam preparações de anticorpos monoclonais de camundongos para diagnóstico ou terapia podem conter anticorpos humanos anti-camundongos (HAMA). Essas amostras podem apresentar tanto valores falsamente elevados ou diminuídos quando testado com kits de teste que utilizam anticorpos monoclonais de camundongos.
- Anticorpos heterofílicos no soro humano podem reagir com o reagente de imunoglobulinas, interferindo com os imunossaios. Os pacientes rotineiramente expostos a animais ou produtos de soro animal podem estar propensos a esse tipo de interferência e valores anômalos podem ser observados no caso da presença de anticorpos heterofílicos. Avaliar cuidadosamente os resultados de pacientes com suspeita de ter esses anticorpos. Se os resultados não forem consistentes com outras observações clínicas, informação adicional deve ser exigida antes do diagnóstico.

XV. CONTROLO INTERNO DE QUALIDADE

- Se os resultados obtidos para o Controlo 1 e/ou 2 não se situarem dentro do intervalo especificado no rótulo do recipiente, os resultados não podem ser utilizados sem haver uma explicação satisfatória para a discrepância verificada.
- Se tal for desejável, cada laboratório pode fazer os seus pools de amostras de controlo, que devem ser mantidas na forma de alíquotas congeladas. Não efectue mais de 2 ciclos de congelamento/descongelamento.
- Os critérios de aceitação da diferença entre os resultados duplos das amostras devem basear-se nas Boas Práticas Laboratório.

XVI. INTERVALOS DE REFERÊNCIA

Valores normais

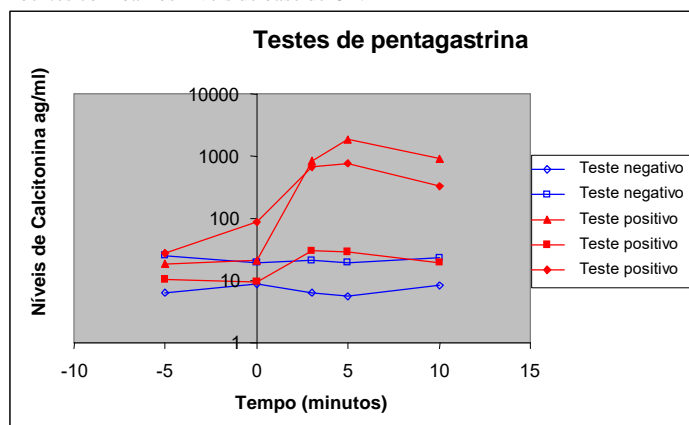
Estes valores são dados apenas a título de referência. Cada laboratório deverá estabelecer o seu próprio intervalo normal de valores.

As variações são expressadas como percentil 2,5% a 97,5%.

Identificação	N	Média (pg/ml)	DP (pg/ml)	Varição (pg/ml)
Homens	94	5,7	2,3	1,9-9,6
Mulheres	98	3,5	1,9	0,5-7,8
Todos	192	4,6	2,4	0,9-9,5

Teste de Pentagastrina:

Doentes com baixos níveis de base de CT:



Os doentes com carcinoma medular da tiróide e os doentes com outros cancros podem apresentar um teste de diluição não linear da amostra de calcitonina; isto pode dever-se a uma forma modificada da calcitonina (polímeros e/ou formas glicosiladas) que não é totalmente reconhecida pelos nossos anticorpos.

XVII. AVISOS E PRECAUÇÕES

Segurança

Para utilização em diagnóstico *in vitro*. Este kit contém ¹²⁵I (meia-vida: 60 dias), emitindo radiações X (28 keV) e γ (35,5 keV) ionizantes.

Este produto radioactivo pode ser transferido e utilizado apenas por pessoas autorizadas; a aquisição, conservação, uso e troca de produtos radioactivos está

sujeita à legislação nacional. Em caso algum este produto poderá ser administrado em seres humanos ou em animais.

Toda a manipulação de material radioactivo deve ser executada em área própria, longe de locais de passagem. Deve ser mantido no laboratório um livro de notas (log book) para a recepção e conservação dos materiais radioactivos. O equipamento de laboratório contaminado e as substâncias perigosas devem ser eliminadas e separadas para evitar contaminação por diferentes isótopos.

Quaisquer derrames de material radioactivo devem ser imediatamente limpos de acordos com os procedimentos de radiosssegurança. O lixo radioactivo deve ser eliminado de acordo com a legislação local e com as directrizes vigentes. O cumprimento de regras básicas de segurança com material radioactivo confere a protecção adequada.

O material de origem humana utilizado na preparação do reagente foi testado por métodos aprovados pela legislação europeia e/ou FDA e considerado não reactivo ao antigénio de superfície da Hepatite B (HBs Ag), aos anticorpos do vírus da Hepatite C (HCV) e aos anticorpos do vírus da Imunodeficiência humana (HIV-1 e HIV-2). Dado que nenhum método de ensaio conhecido pode oferecer a segurança completa da ausência de agentes infecciosos, os reagentes e as amostras dos doentes devem ser manuseados como potencialmente infecciosos.

Todos os produtos animais e derivados foram recolhidos a partir de animais saudáveis. Os componentes bovinos são oriundos de países onde não foram notificados casos de BSE. No entanto, os componentes com substâncias animais devem ser tratados como potencialmente infecciosos.

A azida sódica pode reagir com as canalizações de chumbo ou cobre, formando azidas metálicas altamente explosivas. Assim, deixar fluir água em abundância nos tubos durante a eliminação de líquidos para prevenir a acumulação de azidas². Evitar o contacto com a pele, olhos e mucosas (azida sódica como conservante). Não fume, beba, coma ou aplique cosméticos na área de trabalho. Não utilize as pipetas com o auxílio da boca. Use vestuário de protecção e luvas descartáveis.

XVIII. BIBLIOGRAFIA

- GRAZE K., SPILER I.J., TASHIJAN A.H., MELVIN K.E.W., CERVI-SKINNER S., GAGEL R.F., MILLER H.H., WOLFE H.J., DELELLIS R.A., LEAPE L., FELDMAN Z.T. and REICHLIN S. (1978)
Natural history of familial medullary thyroid carcinoma; Effect of a program for early diagnosis.
Engl. J. Med., 299,18:980-985.
- HENNESSY J.F., WELLS S.A., ONTJES D.A. and COOPER C.W. (1974)
A comparison of pentagastrin injection and calcium infusion as provocative agents for the detection of medullary carcinoma of the thyroid.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 39:487-495.
- ROUGIER Ph., CALMETTES C., LAPLANCHE A., TRAVAGLI J.P., LEFEVRE M., PARMENTIER C., MILHAUD G. and TUBIANA M. (1983)
the values of calcitonin and carcinoembryonic antigen in the treatment and management of nonfamilial medullary thyroid carcinoma.
Cancer, 51,5:856-862.
- WALLACH S.R., ROYSTON I., TAETLE R., WOHL H. and DEFTOS L. (1981)
Plasma calcitonin as a marker of disease activity in patients with small cell carcinoma of the lung.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 53,3:602-606.
- WELLS S.A., BAYLIN S.B., LINEHAN W.M., FARRELL R.E., COX E.B. and COOPER C.W. (1978)
Provocative agents and the diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland.
Ann. Surg., 188,2:139-141.
- AURBACH G.D., MARX S.J. and SPIEGEL A.M. (1985)
Parathyroid hormone, calcitonin, and the calciferols.
In: Williams Textbook of endocrinology (7th edition; Wilson J.D. and foster D.W. eds) W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1137-1217.
- BODY J.J. et al. (1987)
SCC antigen and other tumor markers in lung cancer: preliminary results.
Excerpta Medica, 162-170.
- ELIARD, P.H. (1989)
Evaluation of a highly sensitive two-site immunoradiometric assay (IRMA) for human calcitonin (hCT): comparison with the RIA's for hCT and for the carboxyl-terminal flanking peptide (PDN-21) of the hCT gene.
71th Annual meeting of the Endocrine Society, Seattle, Washington, Abst. N° 1800 p472.

- NICOLI P. et al. (1995)
Abnormal calcitonin basal levels and pentagastrin response in patients with chronic renal failure on maintenance hemodialysis.
Eur. J. Endocrinol. 132, 1, 75-81.
- PACINI F. et al. (1994)
Routine measurement of serum calcitonin in modular disease allows the preoperative diagnosis of unsuspected sporadic medullary thyroid carcinoma.
J. Clin. Endocrinol. Metab. Excerpta Medica, 78, 4, 824-9.
- QUESADA J. M. et al. (1994)
Calcitriol corrects deficient calcitonin secretion in the Vit. D deficient elderly.
J. Bone Miner Res. 9, 1, 53-57.

XIX. RESUMO DO PROTOCOLO

	CONTAGENS TOTAIS (µl)	CALIBRAD ORES (µl)	AMOSTRA(S) (µl)
Calibradores (0-5)	-	200	-
Amostras	-	-	200
Marcador	50	50	50
Incubação	18 ± 1 horas a 2-8°C		
Separação	-	Aspire (ou decante)	
Solução de Lavagem de Trabalho	-	2,0 ml	
Separação	-	aspire (ou decante)	
Solução de Lavagem de Trabalho	-	2,0 ml	
Separação	-	aspire (ou decante)	
Contagem	Conte os tubos durante 60 seg		

N° de catalogo DIAsource : KIP0429	N° de P.I. : 1700541/pt	N° de revisão : 120914/1
---------------------------------------	----------------------------	-----------------------------

Data da revisão : 2012-09-14

Διαβάστε ολόκληρο το πρωτόκολλο πριν από τη χρήση.

CT-U.S.-IRMA

I. ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Κιτ ανοσοραδιομετρικού προσδιορισμού για την in vitro ποσοτική μέτρηση της ανθρώπινης καλσιτονίνης στον ορό.

II. ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

- A. **Εμπορική ονομασία:** Κιτ CT-U.S.-IRMA της DIASource
- B. **Αριθμός καταλόγου:** KIP0429: 96 εξετάσεις
- Γ. **Κατασκευάζεται από την:** DIASource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

Για τεχνική βοήθεια ή πληροφορίες σχετικά με παραγγελίες επικοινωνήστε στα:
Τηλ.: +32 (0)10 84.99.11 Fax: +32 (0)10 84.99.91

III. ΚΛΙΝΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ

Η καλσιτονίνη (CT) είναι μια πεπτιδική ορμόνη 32 αμινοξέων που εκκρίνεται από τα παραθυλακιοκύτταρα του θυρεοειδούς αδένου υπό έλεγχο του ασβεστίου του ορού. Μετά από οξεία χορήγηση, αυτό το πεπτίδιο δρα ως πιθανή υποασβεστιαστική και υποφωσφαταστική ορμόνη αυξάνοντας την αποβολή του ασβεστίου μέσω των νεφρών και μειώνοντας την αναρρόφηση των οστών. Ωστόσο, ο ακριβής φυσιολογικός της ρόλος στο μεταβολισμό των οστών δεν έχει κατανοηθεί ακόμη πλήρως.

Διάφορες μορφές CT μπορούν να ανιχνευθούν σε δείγματα αίματος, συμπεριλαμβανομένου ενός μονομερούς της CT, ενός οξειδωμένου μονομερούς, ενός διμερούς, μορφών με υψηλότερο μοριακό βάρος και πιθανότατα ενός προδρόμου της CT. Οι συγκεντρώσεις των πεπτιδίων αυτών ποικίλλουν ανάλογα με την κλινική κατάσταση, τη νεφρική λειτουργία και την ιστική προέλευση της CT (φυσιολογική ή εκτοπική παραγωγή).

Το μυελοειδές καρκίνωμα του θυρεοειδούς (MTC) είναι ένας κακοήθης όγκος, που αναπτύσσεται από τα C-κύτταρα, ο οποίος απεκκρίνει υπερβολικές ποσότητες καλσιτονίνης. Η νόσος αυτή εμφανίζεται είτε σε σποραδική (80%) είτε σε οικογενή (20%) μορφή, η οποία μεταβιβάζεται ως αυτοσωματικό κυρίαρχο γονίδιο είτε ως στοιχείο πολλαπλής ενδοκρινούς νεοπλασίας (IIb).

Μέτρια υπερκαλσιτονιναιμία παρατηρείται επίσης κατά την εγκυμοσύνη, την κακοήθη αναιμία, τη νεφρική ανεπάρκεια και κατά τη διάρκεια της περιόδου των πρώτων εβδομάδων της ζωής. Κατά προτίμηση, στον προσδιορισμό αυτό ανιχνεύεται η μονομερής μορφή της CT.


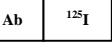
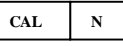

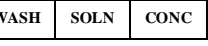
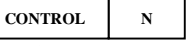
Η μέτρηση της CT με την παρούσα μέθοδο IRMA χρησιμοποιείται για:

- Διάγνωση του μυελοειδούς καρκινώματος του θυρεοειδούς (MTC)
- Παρακολούθηση κακοήθων όγκων, για έλεγχο της επιτυχίας χειρουργικής επέμβασης και παρακολούθηση της περίπτωσης υποτροπής
- Διάγνωση προκλινικών περιπτώσεων οικογενών μορφών του MTC (MEN II ή σύνδρομο Sipple) με τη χρήση εξετάσεων διέγερσης (ασβέστιο ή πενταγαστρίνη)
- Μελέτη της παθοφυσιολογίας του φωσφορικού ασβεστίου και του μεταβολισμού των οστών.

IV. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η εξέταση Calcitonin_U.S. IRMA της DIAsource είναι ένας ανοσοραδιομετρικός προσδιορισμός που βασίζεται σε διαχωρισμό επιστρωμένων σωληναρίων. Χρησιμοποιεί μονοκλωνικά αντισώματα που κατευθύνονται εναντίον διακριτών επιτόπων της ανθρώπινης καλσιτονίνης. Το αντίσωμα σύλληψης προσκολλάται στην κάτω και εσωτερική επιφάνεια ενός πλαστικού σωληναρίου. Βαθμονομητές και δείγματα διανέμονται μέσα στα σωληνάρια και δεσμεύονται στο αντίσωμα σύλληψης. Το αντίσωμα σηματοδότησης (ραδιοσημασμένο) προστίθεται αμέσως και μετά από μια επώαση, που επιτρέπει την ανοσολογική αντίδραση, τα σωληνάρια εκκενώνονται και πλένονται για να αφαιρεθεί το υπερβάλλον μη δεσμευμένο αντίσωμα. Η ραδιενέργεια που δεσμεύεται στα σωληνάρια είναι ευθέως ανάλογη προς την αρχική συγκέντρωση αντιγόνου στους βαθμονομητές και τα δείγματα.

V. ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Αντιδραστήρια	Ποσότητα	Χρωματικό κωδικός	Ανασύσταση
 Tubes coated with anti CT (monoclonal antibodies)	2 x 48	μπλε	Έτοιμο για χρήση
 Anti-CT-125I (μονοκλωνικά αντισώματα) σε ρυθμιστικό διάλυμα TRIS με αλβουμίνη βοός, συντηρητικό αζίδιο (<0.1%) του Νατρίου και κόκκινη χρωστική	1 φιαλίδιο 5,5 ml 720 kBq	κόκκινο	Έτοιμο για χρήση
 Βαθμονομητές 0-5 σε ανθρώπινο ορό χωρίς καλσιτονίνη με γενταμικίνη και θυμόλη (δείτε τις ακριβείς τιμές στις ετικέτες των φιαλιδίων)	6 φιαλίδια λυοφιλ.	κίτρινο	Προσθέστε 1 ml απεσταγμένου νερού
 Ανθρώπινος ορός χωρίς CT (πρέπει να χρησιμοποιηθεί για αραίωση δειγμάτων) με γενταμικίνη και θυμόλη.	1 φιαλίδιο λυοφιλ.	μαύρο	Προσθέστε απεσταγμένο νερό (δείτε τον όγκο στην ετικέτα)
 Διάλυμα πλύσης (TRIS-HCl)	1 φιαλίδιο 10 ml	καφέ	Αραιώστε 70 x με απεσταγμένο νερό (χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα).
 Υλικά ελέγχου 1 2 σε ανθρώπινο ορό με γενταμικίνη και θυμόλη	2 φιαλίδια λυοφιλ.	ασημί	Προσθέστε 1 ml απεσταγμένου νερού

Σημείωση: 1. Ανθρώπινος ορός χωρίς CT πρέπει να χρησιμοποιηθεί για αραίωση δειγμάτων.
2. 1 pg του δικού μας παρασκευάσματος αναφοράς είναι ισοδύναμο με 0,19 mIU 2nd IS 89/620.

VI. ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Τα ακόλουθα υλικά απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται στο κιτ:

1. Απεσταγμένο νερό
2. Πιπέτες για διανομή: 50 μl, 200 μl και 1 ml. (συνιστάται η χρήση πιπετών ακριβείας με ανάλωσιμα πλαστικά ρύγχη)
3. Αναμεικτής στροβιλισμού
4. Μαγνητικός αναδευτήρας
5. Αυτόματη σύριγγα των 5 ml (τύπου Cornwall) για πλύση
6. Σύστημα αναρρόφησης (προαιρετικό).
7. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιοσδήποτε απαρτημητής ακτίνων γ με δυνατότητα μέτρησης του ¹²⁵I (ελάχιστη απόδοση 70%).

VII. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ

- A. Βαθμονομητές:** Ανασυστήστε τους βαθμονομητές με 1 ml απεσταγμένου νερού.
- B. Υλικά ελέγχου:** Ανασυστήστε τα υλικά ελέγχου με 1 ml απεσταγμένου νερού.
- Γ. Ορός χωρίς CT:** Ανασυστήστε τον ορό που δεν περιέχει CT με απεσταγμένο νερό. (δείτε τον όγκο στην ετικέτα)
- Δ. Διάλυμα πλύσης εργασίας:** Προετοιμάστε επαρκή όγκο διαλύματος πλύσης εργασίας με προσθήκη 69 όγκων απεσταγμένου νερού σε 1 όγκο διαλύματος πλύσης (70x). Χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα για την ομογενοποίηση. Απορρίψτε το μη χρησιμοποιημένο διάλυμα πλύσης εργασίας στο τέλος της ημέρας.

VIII. ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΛΗΞΗΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

- Πριν από το άνοιγμα ή την ανασύσταση, όλα τα συστατικά του κιτ παραμένουν σταθερά έως την ημερομηνία λήξης, η οποία αναγράφεται στην ετικέτα, εφόσον διατηρούνται σε θερμοκρασία 2 έως 8° C.
- Μετά την ανασύσταση, βαθμονομητές, υλικά ελέγχου και ορός χωρίς CT θα πρέπει να καταψύχονται αμέσως μετά τη χρήση και να διατηρούνται στους -20° C επί 3 μήνες. Επιτρέπεται μόνον ένας κύκλος κατάψυξης-απόψυξης. Μετά τη δεύτερη χρήση, απορρίψτε τους βαθμονομητές, τα υλικά ελέγχου και τον ορό χωρίς CT.
- Φρέσκο, παρασκευασμένο διάλυμα πλύσης εργασίας θα πρέπει να χρησιμοποιείται την ίδια ημέρα.
- Μετά την πρώτη χρήση του, ο ιχνηθέτης παραμένει σταθερός έως την ημερομηνία λήξης, εφόσον διατηρείται στο αρχικό, ερμητικά κλειστό φιαλίδιο σε θερμοκρασία 2 έως 8° C.
- Τυχόν μεταβολές της φυσικής εμφάνισης των αντιδραστηρίων του κιτ ενδέχεται να υποδηλώνουν αστάθεια ή αλλοίωση.

IX. ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Δείγματα ορού και συνιστώνται για τον προσδιορισμό αυτό.

- Μη χρησιμοποιείτε δείγματα που έχουν υποστεί αιμόλυση.
- Μη χρησιμοποιείτε λιπαιμικά δείγματα.
Αν ένα δείγμα αναμένεται ή είναι γνωστό ότι έχει συγκέντρωση πάνω από τον υψηλότερο βαθμονομητή, πρέπει να αραιώνεται με ορό χωρίς CT για να εμπίπτει εντός του διαστήματος μέτρησης.
- Αν τα δείγματα δεν προσδιοριστούν την ίδια μέρα που έγινε η λήψη του αίματος, συνιστάται να τα καταψύχετε μέχρι τον προσδιορισμό.
- Τα δείγματα μπορούν να αποψυχθούν μόνο μία φορά.
- Για επανειλημμένη εξέταση, καταψύξτε τα σε κλάσματα και απορρίψτε κάθε δείγμα μετά την πρώτη απόψυξη.

X. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

A. Σημειώσεις σχετικά με το χειρισμό

Μη χρησιμοποιείτε το κιτ ή τα συστατικά μετά την ημερομηνία λήξης. Μην αναμεγνύετε υλικά από διαφορετικές παρτίδες κιτ. Φέρετε όλα τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση. Αναμειξτε καλά όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα με απαλή ανακίνηση ή ανάδευση. Χρησιμοποιείτε ένα καθαρό ανάλωσιμο ρύγχος πιπέτας για την προσθήκη κάθε διαφορετικού αντιδραστηρίου και δείγματος προκειμένου να αποφύγετε την επιμόλυνση. Η ακρίβεια βελτιώνεται με χρήση πιπετών υψηλής ακρίβειας ή αυτοματοποιημένου εξοπλισμού διανομής με πιπέτες. Τηρείτε τους χρόνους επώασης. Προετοιμάστε μια καμπύλη βαθμονόμησης για κάθε ανάλυση και μη χρησιμοποιείτε δεδομένα από προηγούμενες αναλύσεις.

B. Διαδικασία

1. Σημάνετε τα επιστρωμένα σωληνάρια εις διπλούν για κάθε βαθμονομητή, δείγμα, υλικό ελέγχου. Για τον προσδιορισμό των συνολικών μετρήσεων, σημάνετε 2 φυσιολογικά σωληνάρια.
2. Ομογενοποιήστε βαθμονομητές υλικά ελέγχου και δείγματα και διανείμετε 200 μl από έκαστο στα αντίστοιχα σωληνάρια.
3. Προσθέστε 50 μl αντι-CT-¹²⁵I (ιχνηθέτη) σε όλα τα σωληνάρια, καθώς και στα μη επιστρωμένα σωληνάρια για τις συνολικές μετρήσεις.
4. Ανακινήστε απαλά με το χέρι τη βάση στήριξης των σωληναρίων.
5. Επώαση για 18 ± 1 ώρες στους 2-8° C.
6. Ξεχωρίστε τα σωληνάρια για τις συνολικές μετρήσεις και αναρροφήστε τα περιεχόμενα των επιστρωμένων σωληναρίων. Μην παραλείψετε να αφαιρέσετε όλο το υγρό, αν απομείνουν σταγονίδια θα αυξηθεί το c.p.m. του υποβάθρου.

7. Πλύνετε δύο φορές τα σωληνάρια με 2 ml διαλύματος πλύσης και αναρροφήστε. Αποφύγετε το σχηματισμό αφρού κατά τη διάρκεια της προσθήκης του διαλύματος πλύσης. Για τη διαδικασία μη αυτόματης πλύσης, αναρροφήστε πρώτα το στρώμα του αφρού και στη συνέχεια το υγρό. Για κύκλους αυτόματης πλύσης συνιστάται συνεχής αναρρόφηση. Η ακρίβεια βελτιώνεται αν γίνει δεύτερη αναρρόφηση των σωληναρίων δύο λεπτά μετά το άδειασμα του τελευταίου σωληναρίου.
8. Υποβάλλετε σε μέτρηση τα σωληνάρια σε απεριθμητή ακτίνων γ για 60 δευτερόλεπτα.

XI. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

- Υπολογίστε τη μέση τιμή των διπλών προσδιορισμών.
- Σε ημι-λογαριθμικό ή γραμμικό χαρτί γραφήματος, σχεδιάστε το c.p.m. (τεταγμένη) για κάθε βαθμονομητή σε σχέση με την αντίστοιχη συγκέντρωση CT (τεταγμένη) και σχεδιάστε μια καμπύλη βαθμονόμησης διαμέσου των σημείων του βαθμονομητή, απορρίπτοντας τις προφανώς εσφαλμένες μετρήσεις.
- Διαβάστε τη συγκέντρωση για κάθε υλικό ελέγχου και δείγμα με παρεμβολή στην καμπύλη βαθμονόμησης. Αναγωγή δεδομένων με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή θα απλοποιήσει αυτούς τους υπολογισμούς. Εάν πρόκειται να χρησιμοποιηθεί αυτόματη επεξεργασία αποτελεσμάτων, συνιστάται προσαρμογή καμπύλης λογιστικής συνάρτησης 4 παραμέτρων.

XII. ΤΥΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Τα ακόλουθα δεδομένα προορίζονται μόνο ως επεξήγηση και δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ποτέ αντί της καμπύλης βαθμονόμησης πραγματικού χρόνου.

CT-U.S.-IRMA	cpm	B/T x 100 (%)
Συνολική μέτρηση	306174	100
Βαθμονομητής		
0 pg/ml	259	0,08
8,2 pg/ml	1872	0,61
17,0 pg/ml	4467	1,46
44,8 pg/ml	11091	3,62
154,0 pg/ml	39847	13,01
674,0 pg/ml	148740	48,58

XIII. ΑΠΟΔΟΣΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

A. Όριο ανίχνευσης

Υποβλήθηκαν σε προσδιορισμό είκοσι μηδενικοί βαθμονομητές μαζί με ένα σύνολο άλλων βαθμονομητών. Το όριο ανίχνευσης, οριζόμενο ως η φαινομενική συγκέντρωση δύο τυπικών αποκλίσεων πάνω από τις μέσες μετρήσεις σε μηδενική δέσμευση, ήταν 0,9 pg/ml.

B. Ειδικότητα

Στον προσδιορισμό αυτό εξετάστηκαν μερικές ορμόνες που δυνητικώς επιδρούν. Σε συγκεντρώσεις έως 100 ng/ml, καμία από τις ακόλουθες ορμόνες δεν έδειξε σημαντική επίδραση:

- CGRP
- Καλσιτονίνη σολομού
- PDN 21
- Τελική προκαλσιτονίνη N.

Γ. Ακρίβεια

ΓΙΑ ΤΟΝ ΙΑΙΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ				ΜΕΤΑΞΥ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΩΝ			
Ορός	N	X (T. A. (pg/ml))	Σ.Δ. %	Ορός	N	X (T. A. (pg/ml))	Σ.Δ. %
A	10	76.1 ± 2.1	2.7	A	10	26.9 ± 2.5	9.3
B	10	337.4 ± 6.5	1.9	B	10	128.8 ± 6.0	4.6

T.A.: Τυπική απόκλιση, Σ.Δ.: Συντελεστής διακύμανσης

Δ. Ορθότητα

ΕΞΕΤΑΣΗ ΑΝΑΚΤΗΣΗΣ

Προσθεθείσα καλσιτονίνη (pg/ml)	Μετρηθείσα συγκέντρωση (pg/ml)	Ανάκτηση (%)
0		
6	6.1	101.7
15.5	16.0	103.2
48	48.5	101.0
142.5	138.7	97.3
500	517.7	103.5

ΕΞΕΤΑΣΗ ΑΡΑΙΩΣΗΣ

Αραίωση	Θεωρητική συγκέντρωση (pg/ml)	Μετρηθείσα συγκέντρωση (pg/ml)	Ανάκτηση (%)
1/1		396.0	-
1/2	198.0	193.6	97.8
1/4	99.0	92.3	93.2
1/8	49.5	49.3	99.6
1/16	24.8	23.6	95.4
1/32	12.4	12.1	97.8
1/64	6.2	6.4	103.4

Ε. Φαινόμενο αγκίστρου (hook)

Ένα δείγμα ορού με προσθήκη συγκέντρωσης 500.000 pg/ml συνθετικής καλσιτονίνης δίνει σήμα πάνω από την συγκέντρωση του υψηλότερου βαθμονομητή.

Δεν παρατηρήθηκε φαινόμενο αγκίστρου σε δείγματα ορού που περιείχαν έως και 16500 pg/mL φυσικής καλσιτονίνης.

Συνιστάται η αραίωση των δειγμάτων άνω των 100 pg/mL με ανθρώπινο ορό χωρίς CT που παρέχεται στο kit. Τα δείγματα πρέπει να αραιωθούν διαδοχικά σε αναλογία 1:10.

Υγιείς εξεταζόμενοι, ασθενείς με μυελοειδές καρκίνωμα του θυρεοειδούς ή άλλους όγκους παρουσιάζουν διαφορετικές ανοσοχημικές μορφές της καλσιτονίνης.

Το μέγεθος αυτών των μορφών μπορεί να διαφέρει από τύπο σε τύπο και μπορεί επομένως να αποκρίνονται διαφορετικά σε ανοσολογικούς προσδιορισμούς και δοκιμασίες αραίωσης.

XIV. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

- Δείγματα από ασθενείς που έχουν λάβει παρασκευάσματα μονοκλωνικών αντισωμάτων ποντικού για σκοπούς διάγνωσης ή θεραπείας, ενδεχομένως να περιέχουν ανθρώπινα αντισώματα αντι-ποντικού (HAMA). Σε αυτά τα δείγματα μπορούν να παρατηρηθούν ψευδώς ανιχνυόμενες ή ψευδώς μειωμένες τιμές, όταν ελέγχονται με kit προσδιορισμού που χρησιμοποιούν μονοκλωνικά αντισώματα ποντικού.
- Τα ετεροφιλικά αντισώματα στον ανθρώπινο ορό μπορούν να αναδράσουν με ανοσοσφαιρίνες των αντιδραστηρίων, προκαλώντας παρεμβολή σε in vitro ανοσοπροσδιορισμούς. Ασθενείς που εκτίθενται τακτικά σε ζώα ή προϊόντα ζωικού ορού ενδεχομένως να είναι επιρρεπείς σε αυτήν την παρεμβολή. Παθολογικές τιμές μπορούν να παρατηρηθούν σε παρουσία ετεροφιλικών αντισωμάτων. Αξιολογείτε με προσοχή τα αποτελέσματα ασθενών, στους οποίους υπάρχει υποψία αυτών των αντισωμάτων. Εάν τα αποτελέσματα δεν είναι σύμφωνα με άλλες κλινικές παρατηρήσεις, θα χρειαστεί η λήψη περαιτέρω πληροφοριών πριν από τη θέση της διάγνωσης.

XV. ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

- Εάν τα αποτελέσματα που λαμβάνονται για το υλικό ελέγχου 1 ή/και το υλικό ελέγχου 2 δε βρίσκονται εντός του πεδίου τιμών που καθορίζεται στην ετικέτα του φιαλιδίου, τα αποτελέσματα δεν είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν, εκτός εάν έχει δοθεί ικανοποιητική εξήγηση για την ασυμφωνία.
- Εάν είναι επιθυμητό, κάθε εργαστήριο μπορεί να δημιουργήσει τα δικά του μείγματα δειγμάτων ελέγχου, τα οποία πρέπει να διατηρούνται κατενυγμένα σε κλάσματα. Μην καταψύχετε-αποψύχετε περισσότερο από μία φορά.
- Τα κριτήρια αποδοχής για τη διαφορά μεταξύ των διπλών αποτελεσμάτων των δειγμάτων θα πρέπει να βασίζονται σε ορθές εργαστηριακές πρακτικές.

XVI. ΔΙΑΣΤΗΜΑΤΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Φυσιολογικές τιμές

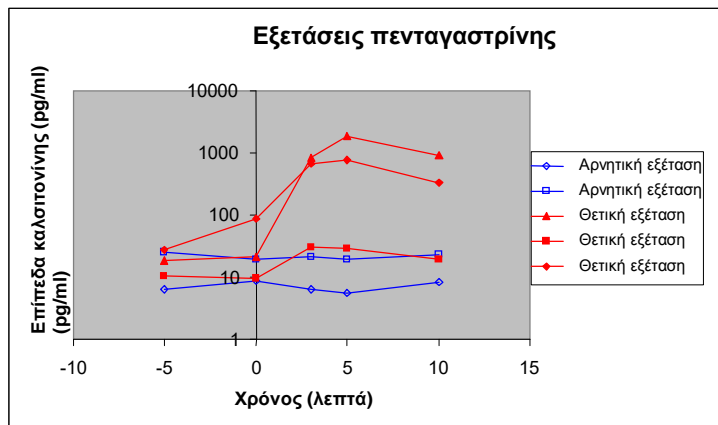
Οι τιμές αυτές παρέχονται μόνον ως οδηγός. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να καθιερώνει το δικό του πεδίο φυσιολογικών τιμών.

Το πεδίο τιμών εκφράζεται ως ποσοστά επί τοις εκατό 2,5 % και 97,5 %.

Προσδιορισμοί	N	Μέση τιμή (pg/ml)	T.A. (pg/ml)	Πεδίο τιμών (pg/ml)
Ανδρες	94	5,7	2,3	1,9 - 9,6
Γυναίκες	98	3,5	1,9	0,5 - 7,8
Σύνολο	192	4,6	2,4	0,9 - 9,5

Εξέταση πενταγαστρίνης:

Ασθενείς με χαμηλά βασικά επίπεδα CT:



Ασθενείς με μυελοειδές καρκίνωμα του θυρεοειδούς και ασθενείς με άλλες κακοήθειες μπορούν να έχουν μία μη γραμμική δοκιμασία αραίωσης για το δείγμα καλσιτονίνης. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε τροποποιημένη μορφή της καλσιτονίνης (πολυμερή και/ή γλυκοζυλιωμένες μορφές) που δεν αναγνωρίζεται πλήρως από τα αντισώματά μας.

XVII. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

Ασφάλεια

Μόνο για διαγνωστική χρήση in vitro. Το kit αυτό περιέχει το ¹²⁵I (Χρόνος ημιζωής: 60 ημέρες), μια ραδιενεργή ουσία η οποία εκπέμπει ιονίζουσα ακτινοβολία X (28 keV) και γ (35.5 keV). Αυτό το ραδιενεργό προϊόν είναι δυνατό να μεταφερθεί και να χρησιμοποιηθεί μόνο από εξουσιοδοτημένα άτομα. Η αγορά, φύλαξη, χρήση και ανταλλαγή ραδιενεργών προϊόντων υπόκεινται στη νομοθεσία της χώρας του τελικού χρήστη. Σε καμία περίπτωση δεν πρέπει να χορηγείται το προϊόν σε ανθρώπους ή ζώα.

Όλος ο χειρισμός του ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να εκτελείται σε καθορισμένο χώρο, μακριά από χώρους τακτικής διέλευσης. Στο εργαστήριο πρέπει να διατηρείται ημερολόγιο για την παραλαβή και τη φύλαξη ραδιενεργών υλικών. Εξοπλισμός και γυάλινα σκεύη του εργαστηρίου, τα οποία θα μπορούσαν να μολυνθούν με ραδιενεργές ουσίες, θα πρέπει να φυλάσσονται σε ξεχωριστό χώρο για την πρόληψη επιμόλυνσης των διάφορων ραδιοϊσότοπων.

Τυχόν διαρροές ραδιενεργών υγρών πρέπει να καθαρίζονται αμέσως σύμφωνα με τις διαδικασίες ασφαλείας από ραδιενέργεια. Τα ραδιενεργά απόβλητα πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς και τις κατευθυντήριες οδηγίες των αρχών που έχουν δικαιοδοσία στο εργαστήριο. Η τήρηση των βασικών κανόνων ασφαλείας από ραδιενέργεια παρέχει επαρκή προστασία.

Τα συστατικά ανθρώπινου αίματος που περιλαμβάνονται στο kit αυτό έχουν ελεγχθεί με μεθόδους εγκεκριμένες στην Ευρώπη ή/και από τον FDA και έχει διαπιστωθεί ότι είναι αρνητικά ως προς την παρουσία HBsAg, αντι-HCV, αντι-HIV-1 και 2. Καμία γνωστή μέθοδος δεν είναι δυνατό να παρέχει πλήρη διασφάλιση ότι παράγωγα του ανθρώπινου αίματος δε θα μεταδώσουν ηπατίτιδα, AIDS ή άλλες λοιμώξεις. Επομένως, ο χειρισμός αντιδραστηρίων, δειγμάτων ορού ή πλάσματος θα πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τις τοπικές διαδικασίες περι ασφαλείας.

Όλα τα ζωικά προϊόντα και παράγωγα έχουν συλλεχθεί από υγιή ζώα. Τα βόεια συστατικά προέρχονται από χώρες όπου δεν έχει αναφερθεί BSE. Παρ' όλ' αυτά, συστατικά που περιέχουν ζωικές ουσίες θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως δυναμικά μολυσματικά.

Αποφεύγετε οποιαδήποτε επαφή του δέρματος με αντιδραστήρια (χρησιμοποιείται αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό). Το αζίδιο στο kit αυτό ενδέχεται να αντιδράσει με μολυβδο και χαλκό των υδραυλικών σωληνώσεων και να σχηματίσει με τον τρόπο αυτό ιδιαίτερα εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Κατά τη διάρκεια του βήματος πλύσης, εκπλύνετε την αποχέτευση με μεγάλη ποσότητα νερού, για την πρόληψη τυχόν συσώρευσης αζιδίου.

Μην καπνίζετε, μην πίνετε, μην τρώτε και μη χρησιμοποιείτε καλλυντικά στο χώρο εργασίας. Μην διανέμετε με πιπέτα χρησιμοποιώντας το στόμα σας. Χρησιμοποιείτε προστατευτικό ρουχισμό και αναλώσιμα γάντια.

XVIII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- GRAZE K., SPILER I.J., TASHIAN A.H., MELVIN K.E.W., CERVI-SKINNER S., GAGEL R.F., MILLER H.H., WOLFE H.J., DELELLIS R.A., LEAPE L., FELDMAN Z.T. and REICHLIN S. (1978) **Natural history of familial medullary thyroid carcinoma; Effect of a program for early diagnosis.** Engl. J. Med., 299,18:980-985.
- HENNESSY J.F., WELLS S.A., ONTJES D.A. and COOPER C.W. (1974) **A comparison of pentagastrin injection and calcium infusion as provocative agents for the detection of medullary carcinoma of the thyroid.** J. Clin. Endocrinol. Metab., 39:487-495.
- ROUGIER Ph., CALMETTES C., LAPLANCHE A., TRAVAGLI J.P., LEFEVRE M., PARMENTIER C., MILHAUD G. and TUBIANA M. (1983) **the values of calcitonin and carcinoembryonic antigen in the treatment and management of nonfamilial medullary thyroid carcinoma.** Cancer, 51,5:856-862.
- WALLACH S.R., ROYSTON I., TAETLE R., WOHL H. and DEFTOS L. (1981) **Plasma calcitonin as a marker of disease activity in patients with small cell carcinoma of the lung.** J. Clin. Endocrinol. Metab., 53,3:602-606.
- WELLS S.A., BAYLIN S.B., LINEHAN W.M., FARRELL R.E., COX E.B. and COOPER C.W. (1978) **Provocative agents and the diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland.** Ann. Surg., 188,2:139-141.
- AURBACH G.D., MARX S.J. and SPIEGEL A.M. (1985) **Parathyroid hormone, calcitonin, and the calciferols.** In: williams Textbook of endocrinology (7th edition; Wilson J.D. and foster D.W. eds) W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1137-1217.
- BODY J.J. et al. (1987) **SCC antigen and other tumor markers in lung cancer: preliminary results.** Excerpta Medica, 162-170.
- ELIARD, P.H. (1989) **Evaluation of a highly sensitive two-site immunoradiometric assay (IRMA) for human calcitonin (hCT): comparison with the RIA's for hCT and for the carboxyl-terminal flanking peptide (PDN-21) of the hCT gene.** 71th Annual meeting of the Endocrine Society, Seattle, Washington, Abst. N° 1800 p472.
- NICOLI P. et al. (1995) **Abnormal calcitonin basal levels and pentagastrin response in patients with chronic renal failure on maintenance hemodialysis.** Eur. J. Endocrinol. 132, 1, 75-81.
- PACINI F. et al. (1994) **Routine measurement of serum calcitonin in modular disease allows the preoperative diagnosis of unsuspected sporadic medullary thyroid carcinoma.** J. Clin. Endocrinol. Metab. Excerpta Medica, 78, 4, 824-9.
- QUESADA J. M. et al. (1994) **Calcitriol corrects deficient calcitonin secretion in the Vit. D deficient elderly.** J. Bone Miner Res. 9, 1, 53-57.

XIX. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ

	ΣΥΝΟΛΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ μl	ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΕΣ μl	ΔΕΙΓΜΑ(ΤΑ) μl
Βαθμονομητές (0-5)	-	200	-
Δείγματα Ιχνηθέτης	- 50	- 50	200 50
Επώαση	18 +/- 1 ώρες στους 2-8°C		
Διαχωρισμός	-	αναρρόφηση	
Διάλυμα πλύσης	-	2,0 ml	
Διαχωρισμός	-	αναρρόφηση	
Διάλυμα πλύσης	-	2,0 ml	
Διαχωρισμός	-	αναρρόφηση	
Μέτρηση	Μέτρηση σωληναρίων επί 60 δευτερόλεπτα		

Αρ. καταλόγου DIAsource: KIP0429	Αριθμός P.I.: 1700541/e1	Αρ. αναθεώρησης: 120914/1
-------------------------------------	-----------------------------	------------------------------

ημερομηνία αναθεώρησης : 2012-09-14

For Informational/Research Purposes Only

Läs hela protokollet före användning

CT-U.S.-IRMA

I. AVSEDD ANVÄNDNING

Immunoradiometriskt analyskit för kvantitativ *in vitro* mätning av humant kalcitonin i serum.

II. ALLMÄN INFORMATION

- A. **Varumärkesnamn:** DIAsource CT-U.S.-IRMA Kit
- B. **Katalognummer:** KIP0429: 96 test
- C. **Tillverkat av:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgien.

För teknisk hjälp eller information om beställning, kontakta:

Tel : +32 (0)10 84.99.11

Fax : +32 (0)10 84.99.91

III. KLINISK BAKGRUND

Kalcitonin (KT) är ett hormon bestående av 32 aminosyrapeptider, vilka utsöndras av sköldkörtelns parafollikulära C-celler, som kontrolleras av serumets kalciumhalt. Vid akut administrering verkar denna peptid som ett effektivt kalcium- och fosfatnedsättande hormon genom att det ökar njurarnas kalciumutsöndring och minskar återupptagningen i ben. Man känner dock ännu inte fullständigt till dess exakta fysiologiska roll i benmetabolismen.

Olika former av KT kan påvisas i blodprover, inkluderande en KT monomer, en oxiderad monomer, en dimer, olika former med högre molekylvikt och möjliga förstadier till KT. Koncentrationen av dessa peptider varierar beroende på den kliniska statusen, njurarnas funktion och ur vilken typ av vävnad KT härstammar (normal eller ektopisk produktion).

Medullär sköldkörtelcancer (MSC) är en malign tumör, som utvecklas ur C-celler, och som utsöndrar kalcitonin i alltför stora mängder. Denna sjukdom förekommer antingen i en sporadiskt förekommande form (80%), eller är den nedärvd (20%), och överförs då som en autosom dominant gen eller som en del av en multipel endokrin neoplasi (IIb).


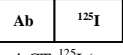
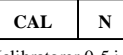


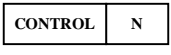
Moderat hyperkalcitoninemi kan även observeras vid graviditet, pernicios anemi, njurinsufficiens och under den neonatala perioden. Vid denna analys upptäckts i första hand den monomera formen av KT. Mätning av KT med denna IRMA är avsedd för:

- diagnostisering av medullär sköldkörtelcancer (MSC)
- uppföljning av de maligna tumörerna, varvid man kontrollerar hur det kirurgiska ingreppet lyckats och spårar förekomst av återfall
- diagnostisering av de prekliniska fallen av den i släkten förekommande formen av MSC (MEN II eller Sipples syndrom) genom användning av stimuleringstest (kalcium eller pentagastrin)
- undersökning av kalciumfosfatets och benmetabolismens patofysiologi.

IV. METODENS PRINCIPER

DIASource Calcitonin-U.S. IRMA är en immunoradiometrisk analys som är baserad på separation i coatade provrör. Den använder monoklonala antikroppar som är riktade mot specifika epitoper av humant calcitonin. Den uppfångande antikroppen har fästs på den nedre inre ytan av ett plaströr. Kalibratorer och prover doseras i provröret och binds till den uppfångande antikroppen. Signalantikroppen (radiomärkt) tillsätts omedelbart, och efter en inkubation som tillåter immunologisk reaktion töms provrören och sköljs för att avlägsna den överflödiga obundna antikroppen. Den radioaktivitet som är bunden vid provrören är direkt proportionell till den ursprungliga antigenkoncentrationen i kalibratorer och prover.

V. INGÅENDE REAGENSER

Reagenser	Mängd	Färgkod	Utspädning
 Provrör coatade med anti- KT (monoklonala antikroppar)	2 x 48	blå	Färdig att användas
 Anti-CT- ¹²⁵ I (monoklonala antikroppar) i TRIS buffert med bovint serum albumin, azide (<0.1%) och inert röd färg	1 ampull 5,5 ml 720 kBq	röd	Färdig att användas
 Kalibratorer 0-5 i calcitoninfritt humant serum med gentamycin och tymol (se exakta värden på ampullernas etiketter)	6 ampuller frystorkat	gul	Tillsätt 1 ml destillerat vatten
 KT-fritt humant serum (att användas för utspädning av proverna) med gentamycin och tymol	1 ampull frystorkat	svart	Tillsätt destillerat vatten (se mängd på etiketten)
 Tvättlösning (TRIS-HCL)	1 ampull 10 ml	brun	Späd ut 70x med destillerat vatten (använd magnetorrörare)
 Kontrollerna 1 och 2 i humant serum med gentamycin och tymol	2 ampuller frystorkat	silver	Tillsätt 1 ml destillerat vatten

Obs: 1. KT-fritt humant serum bör användas för att späda ut proverna.
2. 1 pg av vårt referensämne motsvarar 0,19 µIU 2nd IS 89/620.

VI. EJ INGÅENDE TILLBEHÖR

Följande material behövs men finns inte med i kitet:

1. Destillerat vatten
2. Pipetter för dosering av: 50 µl, 200 µl och 1 ml (användning av exakta pipetter med engångs plastspetsar rekommenderas)
3. Vortex mixer
4. Magnetorrörare
5. 5 ml automatspruta (typ Cornwall) för sköljning
6. Vattensug eller liknande
7. Gammarräknare, som mäter ¹²⁵I, (minimum utbyte 70%)

VII. PREPARATION AV REAGENSER

- A. Kalibratorer:** Späd ut kalibratorerna med 1 ml destillerat vatten
- B. Kontroller:** Späd ut kontrollerna med 1 ml destillerat vatten
- C. KT-fritt serum:** Späd ut det KT-fria serumet med destillerat vatten (se mängd på etiketten)
- D. Tvättlösning:** Blanda en tillräckligt stor mängd arbetsvättlösning genom att tillsätta 69 delar destillerat vatten till en del tvättlösning (70x). Använd en magnetorrörare för blandning. Släng oanvänd arbetsvättlösning vid dagens slut.

VIII. FÖRVARING AV REAGENSER OCH MÄRKNING AV UTGÅNGSDATUM

- Öppnade kitkomponenter är stabila till och med utgångsdatum, som märkts ut på etiketten, om de har förvarats i en temperatur på 2 -8°C.
- Efter utspädning bör kalibratorer, kontroller och det KT-fria serumet omedelbart efter användning frysas ner och förvaras vid en temperatur på -20°C. Stabilt under 3 månader. Endast en nedfrysnings- och upptiningscykel är tillåten. Släng bort kalibratorer, kontroller och det KT-fria serumet efter den andra användningen.
- Nyblandad tvättlösning bör användas under samma dag.
- Efter den första användningen är tracern stabil ända tills utgångsdatum, om den förvaras i den ursprungliga tillslutna ampullen vid 2-8°C.
- Förändringar i det fysiska utseende av kitets reagenser kan tyda på instabilitet.

IX. PROVTAGNING OCH PREPARATION AV PROVER

Serumprover rekommenderas för denna analys.

- Använd inte hemolyserade prover.
- Använd inte lipemiska prover.
- Om man förväntas ha en koncentration som överstiger den högsta kalibratorm, bör provet spädas ut med ett KT-fritt serum för att rymmas inom mätområdet.
- Om proverna inte analyseras samma dag som blodprovet tagits, är det tillrådligt att proverna nedfrysas tills de skall analyseras.
- Prover kan tinas upp endast en gång.
- För att kunna utföra upprepade tester, frys ned proverna i portioner, och släng varje prov efter första upptiningen.

X. PROCEDUR

A. Hanteringsrekommendationer

Använd inte kitet eller komponenterna efter utgångsdatum. Blanda inte material från olika kit. Alla reagenser bör vara vid rumstempererade före användningen.

Blanda noggrant alla reagenser och prover genom att försiktigt skaka eller snurra dem. Använd en ren engångspipettspets för att undvika korskontamination vid tillsättning av varje enskilt reagens och prov. Högprecisionspipetter eller automatpipetter ökar noggrannheten. Håll inkubationstiderna. Gör en ny kalibreringskurva för varje körning, använd inte data från tidigare körningar.

B. Procedur

1. Sätt dubbla etiketter på de coatade provrören för varje kalibrator, prov och kontroll. Sätt etiketter på 2 coatade provrör för att bestämma den totala mängden.
2. Blanda/mixa kalibratorer, kontroller och prover, och fördela 200 µl av var och en i respektive provrör.
3. Tillsätt 50 µl anti-CT-¹²⁵I (tracer) i alla provrör, även i de coatade provrören för den totala mängden.
4. Skaka provrörsstället försiktigt för hand.
5. Inkubera 18 ± 1 timme vid 2-8°C.
6. Sug upp vätskan i de coatade provrören. Försäkra dig om att du har avlägsnat all vätska, kvarblivna droppar ökar bakgrundsstrålning.
7. Skölj provrören två gånger med 2 ml tvättlösning och sug av. Undvik att tvättlösningen skummar då du tillsätter den. Sug först bort lagret av skum och sedan vätskan vid manuell sköljningsprocedur. För automatiska sköljningscyklar rekommenderas kontinuerlig utsugning. Precisionen ökar om man suger ut provrören en andra gång 2 min efter att man har tömt det sista provröret.
8. Mät provrören i en gammarräknare under 60 sekunder.

XI. UTRÄKNING AV RESULTATEN

1. Räkna ut medeltalet av dubbelproverna.
2. Framställ grafiskt, på ett halvlogaritmiskt eller lineärt grafiskt papper, c.p.m. (kordinatan) för varje kalibrator i förhållande till den motsvarande KT-koncentrationen (abskissan), och dra en kalibreringskurva genom kalibreringspunkterna. Tag bort de punkter som ligger klart utanför.
3. Avläs koncentrationen för varje kontroll och prov genom interpolering på kalibreringskurvan. Automatisk databehandling förenklar dessa uträkningar. Om man använder automatisk resultatbearbetning, rekommenderas att man använder en logistisk funktionskurvsavpassning med 4-parametrar.

XII. TYPISKA DATA

Följande data ges endast som illustration, och bör aldrig användas istället för kalibreringskurvan i realtid.

CT-U.S.-IRMA		Cpm	B/T x 100 (%)
Total mängd		306174	100
Kalibrerare	0 pg/ml	259	0,08
	8,2 pg/ml	1872	0,61
	17,0 pg/ml	4467	1,46
	44,8 pg/ml	11091	3,62
	154,0 pg/ml	39847	13,01
	674,0 pg/ml	148740	48,58

XIII. PRESTATION OCH BEGRÄNSNINGAR

A. Detektionsgräns

Tjugo nollkalibreringar mättes tillsammans med ett set andra kalibratorer. Detektionsgränsen, definierad som den synbara koncentrationen, två standardavvikelse över medeltalet av mängden vid nollbindning, var 0,9 pg/ml.

B. Specificitet

Några av de potentiellt störande hormonerna har testats i denna analys. Vid koncentrationer på upp till 100 ng/ml uppvisade inget av de följande hormonerna signifikant interferens:

- CGRP
- Lax-kalcitonin
- PDN 21
- Prokalcitonin N terminal.

C. Precision

INTRAANALYS				INTERANALYS			
Serum	N	X ± S.D. (pg/ml)	CV %	Serum	N	X ± S.D. (pg/ml)	CV %
A	10	76,1 ± 2,1	2,7	A	10	62,3 ± 2,1	3,3
B	10	337,4 ± 6,5	1,9	B	10	216,9 ± 4,1	1,9

SD: Standard avvikelse; CV: Variationskoefficient

D. Noggrannhet

UTBYTESTEST

Tillsatt kalcitonin (pg/ml)	CT Uppmätt konc. (pg/ml)	Återvinning (%)
0		
6	6,1	101,7
15,5	16,0	103,2
48	48,5	101,0
142,5	138,7	97,3
500	517,7	103,5

UTSPÄDNINGSTEST

Utspädning	Teoretisk konc. (pg/ml)	Uppmätt konc. (pg/ml)	Återvinning (%)
1/1		396,0	-
1/2	198,0	193,6	97,8
1/4	99,0	92,3	93,2
1/8	49,5	49,3	99,6
1/16	24,8	23,6	95,4
1/32	12,4	12,1	97,8
1/64	6,2	6,4	103,4

E. Hookeffekten

Ett serumprov med en toppkoncentration av syntetiskt kalcitonin på 500 000 pg/ml ger en signal som överstiger den högsta kalibreringskoncentrationen.

Ingen Hookeffekt observerades i serumprover som innehöll upp till 16 500 pg/ml nativt kalcitonin.

Det rekommenderas att prover över 100 pg/ml späds med kalcitoninfritt humant serum som medföljer kitet. Proverna måste spädas sekventiellt 1:10.

Friska försökspersoner och patienter med medullär sköldkörtelcancer eller annan tumör har olika immunokemiska former av kalcitonin.

Storleken hos dessa former kan variera från typ till typ och kan därför svara olika i immunanalyser och utspädningstester.

XIV. BEGRÄNSNINGAR

- Prover från patienter, som har fått preparat med monoklonala musantikroppar för diagnos eller behandling, kan innehålla humana antimusantikroppar (HAMA). Sådana prover kan visa antingen falskt förhöjda eller sänkta värden vid test med analysatser som använder monoklonala musantikroppar.
- Heterofila antikroppar i humant serum kan reagera med immunglobuliner i reagenset och interferera med immunanalyser *in vitro*. Patienter som rutinmässigt exponeras för djur eller serumprodukter från djur kan ha benägenhet för denna interferens och anomala värden kan observeras vid närvaro av heterofila antikroppar. Utvärdera noggrant resultaten från patienter som misstänks ha dessa antikroppar. Om resultaten inte överensstämmer med andra kliniska observationer krävs ytterligare information före diagnos.

XV. INTERN KVALITETSKONTROLL

- Om resultatet, som erhålls för Kontroll 1 och/eller Kontroll 2, inte faller inom värdena för det som specificerats på ampullens etikett, kan resultaten ej användas om inte en tillfredsställande förklaring för diskrepansen har kunnat ges.
- Om det är önskvärt kan varje laboratorium göra sina egna kontrollprover, som bör hållas frusna i portioner. Frys och tina inte upp mer än en gång.
- Kriterier för godkännande av skillnaderna mellan dubbelvärdena för proverna bör stödja sig på god laboratoriepraxis.

XVI. REFERENSINTERVALLER

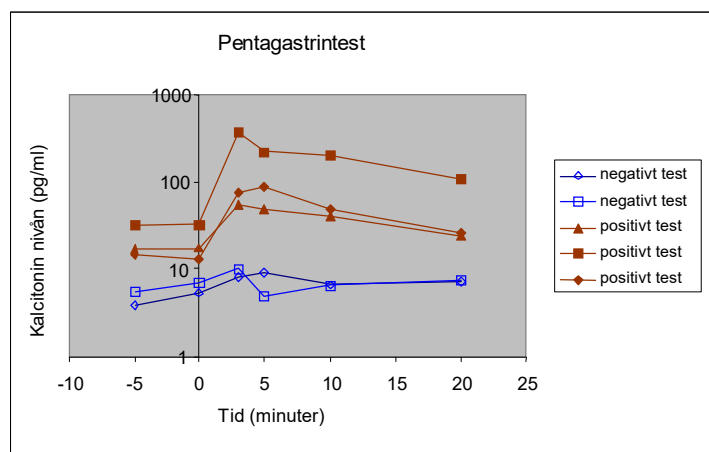
Normala värden

Dessa värden är endast givna som riktlinjer; varje laboratorium bör etablera sitt eget referensområde. Referensvärdena är uttryckta som 2,5% till 97,5% percentilen.

Identifikation	N	Medel (pg/ml)	SD (pg/ml)	Räckvidd (pg/ml)
Män	94	5,7	2,3	1,9 - 9,6
Kvinnor	98	3,5	1,9	0,5 - 7,8
Samtliga	192	4,6	2,4	0,9 - 9,5

Pentagastrin test:

Patienter med låga basnivåer av CT:



Patienter med medullär sköldkörtelcancer och patienter med andra maligniteter kan få ett icke-linjärt utspädningstest på kalcitoninprovet. Detta kan bero på en modifierad form av kalcitonin (polymerer och/eller glykosylerade former) som inte känns igen helt av våra antikroppar.

XVII. FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER OCH VARNINGAR

Säkerhet

Bör användas endast för *in vitro* diagnostik.

Detta kit innehåller ¹²⁵I (halveringstid: 60 dagar), avger röntgen (X: 28 keV) och gamma (γ: 35.5 keV) strålar.

Denna radioaktiva produkt bör användas endast av auktoriserade personer; inköp, lagring, användning och utbyte av radioaktiva produkter är underställda gällande lagstiftning i slutanvändarens land. I inget fall får denna produkt ges åt människor eller djur.

All radioaktiv hantering bör ske på ett för ändamålet avsett område, avskilt från allmänna platser. En dagbok för mottagning och lagring av radioaktivt material måste föras i laboratoriet. Laboratorieutrustning och glasvaror som kan kontamineras med radioaktiva ämnen bör förvaras avskilt för undvikande av korskontamination av olika radioisotoper.

Allt radioaktivt spill måste omhändertas omedelbart i enlighet med säkerhetsföreskrifterna för radioaktiva ämnen. Det radioaktiva avfallet bör behandlas i enlighet med bestämmelser som utfärdats av lokala myndigheter. Genom att följa de grundregler som gäller för strålningssäkerhet garanteras ett tillräckligt skydd.

De humana blodkomponenter som finns i detta kit har testats med i Europa och/eller av FDA godkända metoder, och de har konstaterats vara negativa för HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 och 2. Ingen känd metod kan ge en fullständig säkerhet mot överföring av hepatit, AIDS eller andra infektioner genom humant blodderivat. Därför bör hanteringen av reagenser, serum eller plasmaprover ske i enlighet med lokala säkerhetsföreskrifter.

Alla animaliska produkter och derivat har insamlats från friska djur. Komponenterna från nötdjur kommer från länder där BSE inte har rapporterats. Dock bör komponenter som innehåller animaliska substanser behandlas som potentiellt smittsamma.

Undvik all hudkontakt med reagenserna (innehåller Natriumazid som konserveringsmedel). Natriumazid kan reagera med bly och koppar i avloppsrören och bilda explosiva metallsyror. Vid sköljningsskedet bör avloppet spolas med stora mängder vatten för att undvika en syraökning.

Du bör inte röka, dricka, äta eller använda kosmetika i arbetsutrymmena. Pipettera inte med munnen. Använd skyddskläder och engångshandskar.

XVIII. REFERENSER

- GRAZE K., SPILER I.J., TASHIJAN A.H., MELVIN K.E.W., CERVI-SKINNER S., GAGEL R.F., MILLER H.H., WOLFE H.J., DELELLIS R.A., LEAPE L., FELDMAN Z.T. and REICHLIN S. (1978)
Natural history of familial medullary thyroid carcinoma; Effect of a program for early diagnosis.
Engl. J. Med., 299,18:980-985.
- HENNESSY J.F., WELLS S.A., ONTJES D.A. and COOPER C.W. (1974)
A comparison of pentagastrin injection and calcium infusion as provocative agents for the detection of medullary carcinoma of the thyroid.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 39:487-495.
- ROUGIER Ph., CALMETTES C., LAPLANCHE A., TRAVAGLI J.P., LEFEVRE M., PARMENTIER C., MILHAUD G. and TUBIANA M. (1983)
the values of calcitonin and carcinoembryonic antigen in the treatment and management of nonfamilial medullary thyroid carcinoma.
Cancer, 51,5:856-862.
- WALLACH S.R., ROYSTON I., TAETLE R., WOHL H. and DEFTOS L. (1981)
Plasma calcitonin as a marker of disease activity in patients with small cell carcinoma of the lung.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 53,3:602-606.
- WELLS S.A., BAYLIN S.B., LINEHAN W.M., FARRELL R.E., COX E.B. and COOPER C.W. (1978)
Provocative agents and the diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland.
Ann. Surg., 188,2:139-141.
- AURBACH G.D., MARX S.J. and SPIEGEL A.M. (1985)
Parathyroid hormone, calcitonin, and the calciferols.
In: williams Textbook of endocrinology (7th edition; Wilson J.D. and foster D.W. eds) W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1137-1217.
- BODY J.J. et al. (1987)
SCC antigen and other tumor markers in lung cancer: preliminary results.
Excerpta Medica, 162-170.

- ELIARD, P.H. (1989)
Evaluation of a highly sensitive two-site immunoradiometric assay (IRMA) for human calcitonin (hCT): comparison with the RIA's for hCT and for the carboxyl-terminal flanking peptide (PDN-21) of the hCT gene.
71th Annual meeting of the Endocrine Society, Seattle, Washington, Abst. N° 1800 p472.
- NICOLI P. et al. (1995)
Abnormal calcitonin basal levels and pentagastrin response in patients with chronic renal failure on maintenance hemodialysis.
Eur. J. Endocrinol. 132, 1, 75-81.
- PACINI F. et al. (1994)
Routine measurement of serum calcitonin in modular disease allows the preoperative diagnosis of unsuspected sporadic medullary thyroid carcinoma.
J. Clin. Endocrinol. Metab. Excerpta Medica, 78, 4, 824-9.
- QUESADA J. M. et al. (1994)
Calcitriol corrects deficient calcitonin secretion in the Vit. D deficient elderly.
J. Bone Miner Res. 9, 1, 53-57.

XIX. PROTOKOLLSAMMANDRAG

	TOTALA MÄNGDER µl	KALIBRATOR µl	PROV(ER) µl
Kalibrator (0-5)	-	200	-
Prover	-	-	200
Tracer	50	50	50
Inkubation	18 ± 1 timmar i 2-8°C		
Separation	-		Sug ut
Tvättlösning	-		2,0 ml
Separation	-		sug ut
Tvättlösning	-		2,0 ml
Separation	-		sug ut
Mätning	Mät provrören i 60 sekunder		

DIAsource Katalog Nr: KIP0429	P.I. Nummer: 1700541/sv	Revisionsnr: 120914/1
----------------------------------	----------------------------	--------------------------

Utfärdat : 2012-09-14

Przed zastosowaniem należy przeczytać cały protokół.

CT-U.S.-IRMA

I. PRZEZNACZENIE

Zestaw do ilościowego pomiaru immunoradiometrycznego ludzkiej kalcytoniny metodą *in vitro* w surowicy.

II. INFORMACJE OGÓLNE

- A. **Nazwa firmowa:** DIAsource CT-U.S.-IRMA Kit
- B. **Numer katalogowy:** KIP0429: 96 oznaczeń
- C. **Wyprodukowano przez:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgia.

Dział pomocy technicznej oraz informacje dotyczące zamówień:

Tel: +32 (0)10 84.99.11

Fax: +32 (0)10 84.99.91

III. INFORMACJE KLINICZNE

Kalcytonina (CT) jest hormonem peptydowym składającym się z 32 aminokwasów wydzielanym przez komórki przykosmkowe C (znajdujące się w gruczole tarczowym) pod kontrolą poziomu wapnia w surowicy. Nagłe podanie tego peptydu działa jak potencjalny hormon obniżający poziom wapnia i fosforanów poprzez zwiększenie nerkowego klirensu wapnia i redukcję resorpcji kości. Jednakże, jeżeli chodzi o metabolizm kości, dokładne działanie fizjologiczne tej substancji nie zostało w pełni określone.

W próbkach krwi mogą być wykrywane różne postacie CT. Mogą to być monomery CT, utlenione monomery, dimery, formy o dużej masie cząsteczkowej i możliwe prekursorzy CT. Stężenia tych peptydów zmieniają się w zależności od stanu klinicznego, czynności nerek i pochodzenia tkankowego CT (produkcja prawidłowa lub ektopowa).

Rak rdzeniasty tarczycy (MTC) jest guzem złośliwym, pochodzącym z komórek C, wydzielającym kalcytoninę w znacznym nadmiarze. Choroba występuje albo sporadycznie (80%) bądź w postaci rodzinnej (20%), która jest przekazywana w sposób autosomalnie dominujący lub też jako składowa zespołu MEN (multiple endocrine neoplasia) IIb.

Umiarkowany wzrost poziomu kalcytoniny jest również obserwowany w czasie ciąży, niedokrwistości złośliwej, niewydolności nerek i w okresie noworodkowym. W tym oznaczeniu wykrywana jest przeważnie forma monomerowa CT.

Pomiar CT przy udziale IRMA jest stosowany w celu:

- rozpoznawania raka rdzeniastego tarczycy (MTC)
- obserwacji guzów złośliwych, w celu oceny skuteczności zabiegu operacyjnego i monitorowania nawrotów.
- rozpoznawania przypadków przedklinicznych rodzinnych form MTC (zespół MEN II lub zespół Sipple) poprzez wykorzystywanie testów stymulacji (z wapniem lub pentagastryną).
- badania patofizjologii fosforanów wapnia i metabolizmu kostnego.

IV. ZAGADNIENIA DOTYCZĄCE METODY

Oznaczenie kalcytoniny DIAsource U.S. IRMA jest testem immunoradiometrycznym opartym na separacji substancji z opłaszczonych próbek. Wykorzystuje przeciwciała monoklonalne skierowane wobec swoistym epitopom ludzkiej kalcytoniny. Przechwycone przeciwciała jest przyłączone do dolnej wewnętrznej powierzchni próbki plastikowej. Kalibratory i próbki są dozowane do próbek i wiążą się z unieruchomionym przeciwciałem. Przeciwciała sygnałowe (oznakowane radiologicznie) jest dodawane natychmiast i po inkubacji, która umożliwia przeprowadzenie reakcji immunologicznej, następnie próbki są opróżniane i przepłukiwane w celu usunięcia nadmiaru niezwiązanego przeciwciała. Związany z próbkami poziom radioaktywności jest wprost proporcjonalny do stężenia antygeny początkowego w materiale kalibracyjnym lub w próbce.

V. DOSTARCZONE ODCZYNNIKI

Odczynniki	Ilość	Kolor	Rekonstrukcja			
Próbki opłaszczone przeciwciałami anti-CT (przeciwciała monoklonalne)	2 x 48	niebieski	Gotowe do zastosowania.			
<table border="1"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> Przeciwciała monoklonalne anti-CT- ¹²⁵ I w buforze TRIS z albuminą z surowicy bydlęcej, azydkiem (<0.1%) i obojętnym czerwonym barwnikiem	Ab	¹²⁵ I	1 fiolka 5,5 ml 720 kBq	czerwony	Gotowe do zastosowania.	
Ab	¹²⁵ I					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Kalibratory 0-5 w surowicy pochodzenia ludzkiego wolnej od kalcytoniny z gentamycyną i tymolem (dokładne wartości na etykietach fiolek)	CAL	N	6 fiolek liofil.	żółty	Dodać 1 ml wody destylowanej	
CAL	N					
<table border="1"><tr><td>SERUM</td></tr></table> Surowica pochodzenia ludzkiego wolna od CT (do zastosowania w rozcieńczeniu próbek) z gentamycyną i tymolem	SERUM	1 fiolka liofil.	czarny	Dodać wody destylowanej (objętość podana na etykietce)		
SERUM						
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Roztwór płuczący (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 fiolka 10 ml	brązowy	Rozcieńczyć 70x wodą destylowaną (wykorzystać mieszadło magnetyczne).
WASH	SOLN	CONC				
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Kontrolne 1 i 2 w surowicy pochodzenia ludzkiego z gentamycyną i tymolem	CONTROL	N	2 fiołki liofil.	srebrny	Dodać 1 ml wody destylowanej	
CONTROL	N					

Uwaga: 1. Surowica pochodzenia ludzkiego wolna od CT jest przeznaczona do rozcieńczania próbek.

2. 1 pg przygotowanego (naszego) materiału referencyjnego jest równoważne do 0,19 µIU 2nd IS 89/620.

VI. MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE

Poniższe materiały są wymagane, ale nie są dostarczone w zestawie:

1. Woda destylowana
2. Pipety do dostarczania objętości: 50 µl, 200 µl i 1 ml. (zaleca się stosowanie właściwych pipet z jednorazowymi końcówkami plastikowymi)
3. Mieszadło wirowe
4. Mieszadło magnetyczne
5. Strzykawka automatyczna o objętości 5 ml (rodzaj Cornwall) do płukania
6. Układ do aspiracji (opcjonalnie)
7. Może być wykorzystywany jakikolwiek licznik gamma odpowiedni do pomiaru ¹²⁵I (minimalny uzysk 70%).

VII. PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

- A. Kalibratory:** Rekonstruować kalibratory przy pomocy 1 ml wody destylowanej.
- B. Kontrolne:** Kontrolne należy rekonstruować przy pomocy 1 ml wody destylowanej.
- C. Surowica wolna od CT:** Surowicę wolną od CT rekonstruować przy pomocy wody destylowanej. (objętość podana na etykietce).
- D. Roboczy roztwór płuczający:** Właściwą objętość roboczego roztworu płuczającego należy przygotować dodając 69 objętości wody destylowanej do 1 objętości roztworu płuczającego (70x). Do homogenizacji należy wykorzystać mieszadło magnetyczne. Niewykorzystany roboczy roztwór płuczający należy wylać pod koniec dnia.

VIII. PRZECHOWYWANIE I DATA WAŻNOŚCI ODCZYNNIKÓW

- Przed otwarciem lub rekonstrukcją wszystkie składniki zestawu zachowują trwałość do daty ważności przedstawionej na etykietce, jeżeli są przechowywane w temperaturze od 2 do 8°C.
- Po rekonstrukcji kalibratory, kontrolne i surowica wolna od CT powinny być zamrożone natychmiast po wykorzystaniu i mogą być przechowywane w temperaturze -20°C przez 3 miesiące. Dozwolone jest wyłącznie wykonanie jednego cyklu zamrażania i rozmrażania. Po powtórny wykorzystaniu kalibratory, kontrolne i surowicę wolną od CT należy odrzucić.
- Świeżo przygotowany roboczy roztwór płuczający powinien być wykorzystany w tym samym dniu.
- Po jego pierwszym zastosowaniu, znacznik izotopowy zachowuje trwałość do podanej daty ważności jeżeli jest przechowywany w oryginalnej, dobrze zamkniętej fiołce w temperaturze od 2 do 8°C.
- Zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników w zestawie mogą wskazywać na ich niestabilność lub zużycie.

IX. POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE MATERIAŁU DO BADANIA

Do oznaczenia zaleca się stosowanie próbek surowicy.

- Nie należy wykorzystywać próbek zhemolizowanych.
- Nie używać próbek lipemicznych.
- Jeżeli oczekuje się, że stężenie jest wyższe od najwyższego kalibratora, próbka powinna być rozcieńczona przy pomocy surowicy wolnej od CT, aby wynik mógł znaleźć się w zakresie pomiarowym.
- Jeżeli próbki nie są oznaczane tego samego dnia po pobraniu krwi, zaleca się ich zamrożenie do czasu oznaczenia.
- Próbkę można rozmrozić tylko raz.
- W razie konieczności powtórnego oznaczenia należy zamrozić je w niewielkich objętościach i odrzucać każdą próbkę po rozmrożeniu.

X. PROCEDURA

A. Uwagi dotyczące obsługi

Nie wolno wykorzystywać składników zestawu po upływie daty ważności. Nie wolno mieszać materiałów pochodzących z różnych serii zestawów. Przed wykorzystaniem wszystkie odczynniki powinny osiągnąć temperaturę pokojową. Wszystkie odczynniki i próbki należy dokładnie wymieszać przez delikatne potrząsanie lub obracanie. Aby uniknąć zanieczyszczenia krzyżowego do dodawania poszczególnych odczynników i próbek należy wykorzystywać czyste, jednorazowe końcówki pipet. Pipety wysokiej precyzji lub pipety automatyczne poprawiają precyzję wykonania oznaczenia. Przestrzegać czasów inkubacji. Przygotować krzywą kalibracyjną dla każdego cyklu pomiarowego, nie wolno wykorzystywać danych z poprzednich oznaczeń.

B. Procedura

1. Dla każdego kalibratora, próbki i kontroli należy oznaczyć opłaszczone próbki w badaniach podwójnych. W celu określenia całkowitych zliczeń należy oznaczyć 2 standardowe próbki.
2. Homogenizować kalibratory, kontrolne i dozować 200 µl każdej substancji do odpowiednich próbek.
3. Dodać 50 µl anti-CT-¹²⁵I (znacznik izotopowy) do wszystkich próbek w tym do nieopłaszczonych próbek do całkowitego zliczania.
4. Delikatnie, ręcznie potrząsać statywem z próbkami.
5. Inkubować przez 18 ± 1 godzin w temperaturze 2-8°C.
6. Odstawić próbki do całkowitego zliczania i aspirować zawartość próbek opłaszczonych. Upewnić się że cała płynna zawartość została opróżniona, krople które pozostaną zwiększą c.p.m. otoczenia.
7. Dwukrotnie przepłukać próbki przy pomocy 2 ml roztworu płuczającego i zaaspirować go. W trakcie dodawania roztworu płuczającego należy unikać wytwarzania piany. W procedurze płukania ręcznego w pierwszej kolejności należy aspirować warstwę piany a następnie płyn. W przypadku automatycznych cykli płukania zaleca się stosowanie aspiracji ciągłej. Precyzję można poprawić przez aspirację próbek drugi raz po dwóch minutach po opróżnieniu ostatniej próbki.
8. Zliczać próbki w liczniku gamma przez 60 sekund.

XI. OBLICZANIE WYNIKÓW

1. Obliczyć średnią oznaczeń podwójnych.
2. Na papierze milimetrowym lub w kratkę wykreślić c.p.m. (rzędna) dla każdego kalibratora wobec odpowiadającego stężenia CT (odcietą) oraz wykreślić krzywą kalibracji przez punkty kalibratora, odrzucając oczywiste wartości odbiegające od linii środkowej.
3. Odczytać stężenie dla każdej kontroli i próbki przez naniesienie na krzywą kalibracyjną. Redukcja danych przy pomocy komputera pozwoli uprościć te obliczenia. Jeżeli ma być zastosowane automatyczne przetwarzanie wyników, zaleca się dopasowanie krzywej logistycznej 4 parametrowej.

XII. PRZYKŁAD DANYCH TYPOWYCH

Poniższe dane są przedstawione wyłącznie w celach przykładowych i nie powinny być nigdy stosowane zamiast rzeczywistych krzywych kalibracyjnych.

CT-U.S.-IRMA		cpm	B/T x 100 (%)
Zliczanie całkowite		306174	100
Kalibrator	0 pg/ml	259	0,08
	8,2 pg/ml	1872	0,61
	17,0 pg/ml	4467	1,46
	44,8 pg/ml	11091	3,62
	154,0 pg/ml	39847	13,01
	674,0 pg/ml	148740	48,58

XIII. DZIAŁANIE I OGRANICZENIA

A. Granica wykrywania

Dwadzieścia kalibratorów zerowych oznaczano wraz z zestawem innych kalibratorów. Granica wykrywania, zdefiniowana jako odmienne stężenie dwóch odchyłań standardowych powyżej przeciętnej wartości zliczania przy wiązaniu zerowym kształtowała się na poziomie 0,9 pg/ml.

B. Swoistość

W tym oznaczeniu badano niektóre hormony potencjalnie interferujące. Żaden z następujących hormonów nie przejawiał znaczącej interferencji do wartości stężeń poniżej 100 ng/ml.

- CGRP
- Kalcitonina lososiowa
- PDN 21
- Prokalcitonina N-końcowa

C. Precyzyja

W SERII				POMIĘDZY SERIAMI			
Surowica	N	X ± S.D. (pg/ml)	CV %	Surowica	N	X ± S.D. (pg/ml)	CV %
A	10	76,1 ± 2,1	2,7	A	10	26,9 ± 2,5	9,3
B	10	337,4 ± 6,5	1,9	B	10	128,8 ± 6,0	4,6

SD Odchylenie standardowe; CV: Współczynnik zmienności

D. Dokładność

BADANIE ODZYSKU

Kalcitonina dodana (pg/ml)	CT Stęż. zmierzono (pg/ml)	Odzysk (%)
0		
6	6.1	101.7
15.5	16.0	103.2
48	48.5	101.0
142.5	138.7	97.3
500	517.7	103.5

BADANIE ROZCIEŃCZENIA

Rozcieńczenie	Stęż. teoretyczne (pg/ml)	Stęż. zmierzono (pg/ml)	Odzysk (%)
1/1		396.0	-
1/2	198.0	193.6	97.8
1/4	99.0	92.3	93.2
1/8	49.5	49.3	99.6
1/16	24.8	23.6	95.4
1/32	12.4	12.1	97.8
1/64	6.2	6.4	103.4

E. Efekt hook'a

Próbka surowicy doprawiona syntetyczną kalcitoniną w stężeniu 500 000 pg/ml daje sygnał przekraczający najwyższe stężenie kalibratora.

Efektu Hook'a nie stwierdzono w próbkach surowicy zawierających do 16 500 pg/ml natywnej kalcitoniny.

Zalecane jest rozcieńczanie próbek o stężeniu wyższym niż 100 pg/ml wolną od CT surowicą pochodzenia ludzkiego. Próbkę należy rozcieńczać kolejno 1:10.

Zdrowi pacjenci oraz pacjenci z rakiem rdzeniastym tarczycy lub innymi nowotworami prezentują różne immunochemiczne postacie kalcitoniny. Rozmiary tych postaci mogą się różnić zależnie od rodzaju i mogą z tego powodu dawać różne wyniki w oznaczeniach immunologicznych i badaniach rozcieńczeń.

XIV. OGRANICZENIA

- Próbkę od pacjentów, którzy w celach diagnostycznych lub terapeutycznych otrzymywali preparaty z mysich przeciwciał monoklonalnych, mogą zawierać ludzkie przeciwciała anti-mysie (HAMA). Próbkę taką, oznaczane z użyciem zestawów testowych wykorzystujących mysie przeciwciała monoklonalne, mogą wykazywać wartości fałszywie zawyżone lub zaniżone.
- Przeciwciała heterofilne w ludzkiej surowicy mogą reagować z immunoglobulinami odczynnika, interferując z oznaczeniami immunologicznymi przeprowadzanymi in vitro. Pacjenci rutynowo ekspozycyjni na zwierzęta lub produkty z surowic zwierzęcych mogą wykazywać skłonność do takich interferencji i w razie obecności przeciwciał heterofilnych występować mogą u nich nieprawidłowe wyniki testów. Wyniki oznaczeń próbek od pacjentów z takimi przeciwciałami należy interpretować z ostrożnością. Jeżeli wyniki nie są zgodne z obserwacjami klinicznymi, przed postawieniem rozpoznania powinny być uzyskane dodatkowe informacje.

XV. WEWNĘTRZNA KONTROLA JAKOŚCI

- Jeżeli wyniki uzyskane dla kontroli 1 i 2 nie znajdują się w zakresie określonym na etykiecie fiołki, wyniki nie mogą zostać wykorzystane dopóki nie uda się znaleźć właściwego wyjaśnienia tego odchylenia. Jeżeli to konieczne, każde laboratorium może wykonać własne próbki zbiorcze w celach kontrolnych, które powinny być zamrożone w małych objętościach. Nie wolno zamrażać i rozmrażać więcej niż jeden raz.
- Dopuszczalne kryteria dotyczące różnicy pomiędzy wynikami oznaczeń podwójnych próbek powinny być zgodne z zasadami prawidłowej pracy w laboratorium.

XVI. ZAKRESY REFERENCYJNE

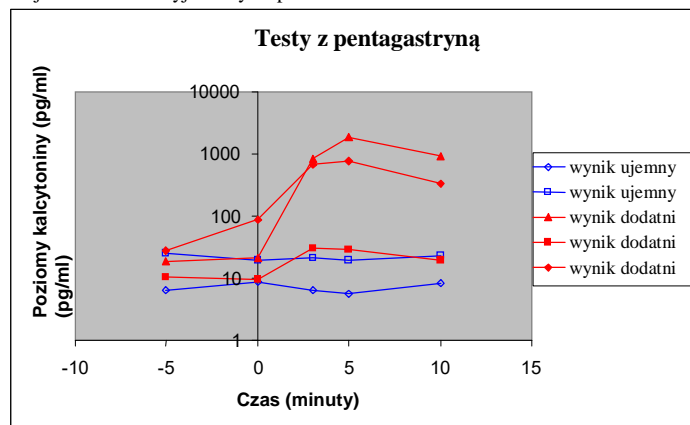
Wartości prawidłowe

Wartości są przedstawione wyłącznie w celach orientacyjnych, każde laboratorium powinno opracować własne wartości referencyjne. Zakres jest oparty na percentylach od 2,5% do 97,5%.

Identyfikacja	N	SD (pg/ml)	Mediana (pg/ml)	Zakres (pg/ml)
Mężczyźni	94	5,7	2,3	1,9 - 9,6
Kobiety	98	3,5	1,9	0,5 - 7,8
Wszyscy	192	4,6	2,4	0,9 - 9,5

Test z pentagastryną:

Pacjent z niskimi wyjściowymi poziomami CT:



Próbki kalcytoniny pochodzące od pacjentów z rakiem rdzeniastym tarczycy i pacjentów z innymi rodzajami złośliwych nowotworów mogą wykazywać nieliniowy test rozcieńczeń; przyczyną tego może być zmodyfikowana forma kalcytoniny (polimery i/lub glikozylowane postacie), która nie jest w pełni rozpoznawana przez nasze przeciwciała.

XVII. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI I OSTRZEŻENIA

Bezpieczeństwo

Tylko do diagnostyki *in vitro*. Zestaw zawiera ¹²⁵I (Okres połowicznego rozpadu: 60 dni), emitujący promieniowanie jonizujące X (28 keV) i γ (35.5 keV). Ten produkt radioaktywny może być transportowany i wykorzystany wyłącznie przez osoby autoryzowane; zakup, przechowywanie, stosowanie i wymiana produktów radioaktywnych podlega regulacjom prawnym kraju użytkownika końcowego. W żadnym wypadku produkt nie może być podawany ludziom lub zwierzętom.

Obsługa materiałów radioaktywnych powinno być przeprowadzana w miejscach do tego przeznaczonych, z dala od miejsc ogólnej użyteczności. W laboratorium musi być przechowywany rejestr przyjęć i przechowywania materiałów radioaktywnych. Wyposażenie laboratorium oraz szkło, które może być skażone substancjami radioaktywnymi powinno być oddzielone w celu uniknięcia krzyżowego zanieczyszczenia różnych radioizotopów.

Wszelkie plamy z substancji radioaktywnych muszą być natychmiast oczyszczone zgodnie z procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa radiologicznego. Odpady radioaktywne muszą być usuwane zgodnie z miejscowymi przepisami i ogólnie przyjętymi wytycznymi obowiązującymi w laboratorium. Przestrzeganie podstawowych zasad bezpieczeństwa radiologicznego zapewnia wystarczające zabezpieczenie.

Składniki zawierające ludzką krew, dostarczone w zestawie, zostały przebadane metodami zaaprobowanymi przez instytucje europejskie i/lub FDA. Stwierdzono, że nie zawierają one HbsAg, przeciwciał anty-HCV, anty-HIV-1 i 2. Żadna ze znanych metod nie może dać całkowitej pewności że materiały pochodzenia ludzkiego nie przeniosą czynników zakaźnych wirusowego zapalenia wątroby, AIDS i innych. Dlatego postępowanie z odczynnikami i próbkami surowicy lub osocza powinno być zgodne z miejscowymi procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa.

Produkty pochodzenia zwierzęcego były pobierane od zdrowych zwierząt. Składniki bydlęce pochodzą z krajów, w których nie odnotowano występowania BSE. Pomimo to, składniki zawierające substancje pochodzenia zwierzęcego powinny być traktowane jako potencjalnie zakaźne.

Unikać kontaktu skóry z odczynnikami (zawierają azydek sodowy jako środek konserwujący). Azydek znajdujący się w zestawie może reagować z miedzią i ołowiem w układzie kanalizacyjnym tworząc związki o właściwościach wybuchowych. W czasie płukania odprowadzany płyn należy płukać dużymi objętościami wody, aby zapobiec kumulacji azydków.

Nie wolno palić, spożywać napojów ani pokarmów, bądź używać kosmetyków w miejscu pracy. Nie pipetować ustami. Zakładać ubranie ochronne i rękawiczki jednorazowe.

XVIII. BIBLIOGRAFIA

- GRAZE K., SPILER I.J., TASHIJAN A.H., MELVIN K.E.W., CERVI-SKINNER S., GAGEL R.F., MILLER H.H., WOLFE H.J., DELELLIS R.A., LEAPE L., FELDMAN Z.T. and REICHLIN S. (1978)
Natural history of familial medullary thyroid carcinoma; Effect of a program for early diagnosis.
Engl. J. Med., 299,18;980-985.
- HENNESSY J.F., WELLS S.A., ONTJES D.A. and COOPER C.W. (1974)
A comparison of pentagastrin injection and calcium infusion as provocative agents for the detection of medullary carcinoma of the thyroid.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 39:487-495.
- ROUGIER Ph., CALMETTES C., LAPLANCHE A., TRAVAGLI J.P., LEFEVRE M., PARMENTIER C., MILHAUD G. and TUBIANA M. (1983)
the values of calcitonin and carcinoembryonic antigen in the treatment and management of nonfamilial medullary thyroid carcinoma.
Cancer, 51,5:856-862.
- WALLACH S.R., ROYSTON I., TAETLE R., WOHL H. and DEFTOS L. (1981)
Plasma calcitonin as a marker of disease activity in patients with small cell carcinoma of the lung.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 53,3:602-606.
- WELLS S.A., BAYLIN S.B., LINEHAN W.M., FARRELL R.E., COX E.B. and COOPER C.W. (1978)
Provocative agents and the diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland.

Ann. Surg., 188,2:139-141.

- AURBACH G.D., MARX S.J. and SPIEGEL A.M. (1985)
Parathyroid hormone, calcitonin, and the calciferols.
In: Williams Textbook of endocrinology (7th edition; Wilson J.D. and Foster D.W. eds) W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1137-1217.
- BODY J.J. et al. (1987)
SCC antigen and other tumor markers in lung cancer: preliminary results.
Excerpta Medica, 162-170.
- ELIARD, P.H. (1989)
Evaluation of a highly sensitive two-site immunoradiometric assay (IRMA) for human calcitonin (hCT): comparison with the RIA's for hCT and for the carboxyl-terminal flanking peptide (PDN-21) of the hCT gene.
71th Annual meeting of the Endocrine Society, Seattle, Washington, Abst. N° 1800 p472.
- NICOLI P. et al. (1995)
Abnormal calcitonin basal levels and pentagastrin response in patients with chronic renal failure on maintenance hemodialysis.
Eur. J. Endocrinol. 132, 1, 75-81.
- PACINI F. et al. (1994)
Routine measurement of serum calcitonin in nodular disease allows the preoperative diagnosis of unsuspected sporadic medullary thyroid carcinoma.
J. Clin. Endocrinol. Metab. Excerpta Medica, 78, 4, 824-9.
- QUESADA J. M. et al. (1994)
Calcitriol corrects deficient calcitonin secretion in the Vit. D deficient elderly.
J. Bone Miner Res. 9, 1, 53-57.

XIX. PODSUMOWANIE PROTOKOŁU

	CALKOWI TA LICZBA ZLICZEŃ μ l	KALIBRATORY μ l	PRÓBKA(I) μ l
Kalibratory (0-5)	-	200	-
Próbki	-	-	200
Znacznik izotopowy	50	50	50
Inkubacja	18 \pm 1 godzin w temperaturze od 2 do 8°C		
Rozdzielenie	-	-	aspiracja
Roztwór płuczający	-	-	2,0 ml
Rozdzielenie	-	-	aspiracja
Roztwór płuczający	-	-	2,0 ml
Rozdzielenie	-	-	aspiracja
Zliczanie	Zliczanie próbek przez 60 sekund		

Nr katalogowy DIASource KIP0429	Numer P.I. 1700541/pl	Nr aktualizacji : 120914/1
------------------------------------	--------------------------	-------------------------------

Data wydania : 2012-09-14



bu

Прочетете целия протокол преди употреба

CT-U.S.-IRMA

I. УПОТРЕБА

Имунорадиометричен набор с цел количествено измерване in vitro на съдържанието на човешки Калцитонин в серум.

II. ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

- A. Патентовано име: DIAsource CT-U.S.-IRMA Kit
- B. Каталоген номер: KIP0429: 96 теста
- C. Произведено от: DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

За техническа помощ или поръчка:
Тел.: +32 (0)10 84.99.11 Факс: +32 (0)10 84.99.91

III. КЛИНИЧЕН ПРЕГЛЕД

Калцитонинът (СТ) представлява 32 аминокислотен пептиден хормон, секретирани от парафоликуларните С-клетки на щитовидната жлеза при контрол на серумния калций. След еднократен прием този пептид действа като силно активен хипокалцемичен и хипофосфатен хормон, който увеличава бъбречното изчистване на калция и намалява резорбцията в костите. Неговата точна физиологична роля в костния метаболизъм, обаче, все още не е изучена в достатъчна степен.

В кръвните проби могат да бъдат открити различни форми на калцитонин, включително калцитонинен мономер, оксидиран мономер, димер, форми с по-голямо молекулярно тегло и по всяка вероятност и прекурсор на калцитонина. Концентрациите на тези пептиди варират с изменението на клиничното състояние, бъбречната функция и хистологичния произход на СТ (нормално или ектопично производство).

Медуларният карцином на щитовидната жлеза (МТС) е злокачествен тумор, развиван от С-клетките, които секретират калцитонин в наднормени количества. Това заболяване възниква или като спорадична (80%) или като наследствена (20%) форма, предавана като автозомен доминантен ген или като компонент от множествена ендокринна неоплазия (Шб).

Умерена хиперкалцитонинемия се наблюдава и по време на бременност, злокачествена анемия, бъбречна недостатъчност, както и през неонаталния период. С това изследване се открива предимно мономерната форма на калцитонина.


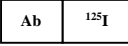
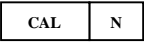


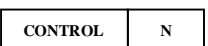
Количественото измерване на калцитонин посредством този кит IRMA се използва за:

- Диагностика на медуларен карцином на щитовидната жлеза (МТС)
- Проследяване развитието на злокачествени тумори, проверка на успешността на дадена операция и наблюдение за рецидиви
- Диагностика на предклинични случаи на наследствените форми на медуларния карцином на щитовидната жлеза (MEN II или синдром на Sipple) чрез използването на симулационни изследвания (калций или пентагастрин)
- Изучаване на патофизиологията на калциево-фосфатния и костния метаболизъм.

IV. ПРИНЦИПИ НА МЕТОДА

DIASource Calcitonin-U.S. IRMA представлява имунорадиометрично изследване, базирано на сепарация на покрити епруветки. То използва моноклонални антитела, прицелени към отделните епитопи на човешкия калцитонин. Прихващащото анти тяло се прикрепва към долната вътрешна повърхност на пластмасовата епруветка. В епруветките се разпределят калибратори и проби, които се свързват с прихващащото анти тяло. Веднага се добавя и сигнално анти тяло (натоварено с радиоактивно вещество) и след период на инкубация, даващ ход на имунологичната реакция, епруветките се изпразват и измиват, за да се отстрани остатъчното несвързано анти тяло. Остатъчната радиоактивност, свързана с епруветките, е право пропорционална на началната концентрация на антигена в калибраторите и пробите.

V. ИЗПОЛЗВАНИ РЕАГЕНТИ

Реагенти	Количество 96 теста	Цветен код	Приготвяне
 Епруветки, покрити с анти-СТ (моноклонални антитела)	2 x 48	син	Готов за употреба
 Анти-СТ- ¹²⁵ I (моноклонални антитела) в трис буфер с волски серумен албумин, азид (<0.1%) и инертна червена боя	1 флакон 5,5 ml 720 kBq	червен	Готов за употреба
 Калибратори 0-5 в човешки серум без съдържание на калцитонин с гентамицин и тимол (виж точните стойности върху етикетите на флаконите)	6 флакона Лиофилизира ни	жълт	Добавете 1 ml дестилирана вода
 Човешки серум без калцитонин (използва се за разреждане на пробата) с гентамицин и тимол	1 флакон лиофилизира н	черен	Добавете дестилирана вода (виж обема върху етикета)
 Измиващ разтвор (TRIS-HCl)	1 флакон 10 ml	кафяв	Разредете 70x с дестилирана вода (използвайте магнитен сепаратор)
 Контроли 1 и 2 в човешки серум с гентамицин и тимол	2 флакона лиофилизира ни	сребърен	Добавете 1 ml дестилирана вода

Забележка: 1. Човешкият серум без калцитонин се използва за разреждане на пробата.
2. 1 µg от нашия референтен препарат е еквивалентен на 0,19 µIU 2nd IS 89/620.

VI. СРЕДСТВА, КОИТО НЕ СЕ ОСИГУРЯВАТ

Следните материали са необходими, но не се осигуряват в набора:

1. Дестилирана вода
2. Пипети от: 50 µl, 200 µl и 1 ml (препоръчва се използването на прецизни пипети с накрайници за еднократна употреба).
3. Завихрящ смесител
4. Магнитен сепаратор
5. 5 ml автоматична спринцовка (тип Cognwall) за измиване
6. Аспирационна система (по избор).
7. Всякакъв гама брояч, който може да измери употребеното количество ¹²⁵I (минимален капацитет от 70%)

VII. ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТА

- A. Калибратори:** Реконституирайте калибраторите с 1 ml дестилирана вода.
- B. Контроли:** Реконституирайте контролите с 1 ml дестилирана вода.
- C. Серум без СТ:** Реконституирайте серума без калцитонин с дестилирана вода (виж обема върху етикета)
- D. Работен измиващ разтвор:** Подгответе адекватен обем от работния измиващ разтвор чрез добавянето на 69 обема дестилирана вода към 1

обем от измиващия разтвор (70x). Използвайте магнитен сепаратор, за да хомогенизирате. Изхвърлете неупотребеното количество от работния измиващ разтвор в края на деня.

VIII. СЪХРАНЕНИЕ И СРОК НА ГОДНОСТ НА РЕАГЕНТИТЕ

- Всички компоненти на кита са стабилни до датата на срока на годност, посочен на опаковката, при температура на съхранение от 2 °C до 8°C преди отваряне или реконституиране.
- След реконституиране калибраторите, контролите и серума без калцитонин трябва да се замразяват веднага след употреба и да се съхраняват при -20°C в продължение на 3 месеца. Позволен е само един цикъл замразяване и размразяване; след втората употреба изхвърлете калибраторите, контролите и серума без калцитонин.
- Пряно приготвения Работен измиващ разтвор трябва да бъде използван същия ден.
- След първата употреба, трейсера е стабилен до изтичане срока на годност, ако се съхранява в оригиналния добре затворен флакон при температури 2-8°C.
- Промени във физическия вид на реагентите на кита индицират нестабилност или негодност.

IX. СЪБИРАНЕ НА ПРОБИТЕ И ОБРАБОТКА

За това изследване се препоръчва използването на серумни проби.

- Не използвайте хемолизирани проби.
- Не използвайте липемични проби.
- Ако дадена проба се очаква да има или е известно, че има концентрация, надвишаваща концентрацията на най-високия калибратор, то тя трябва да бъде разреждана със серум без калцитонин, за да попадне в рамките на интервала на измерване.
- Ако пробите не се изследват в деня на взимането на кръвта, то те трябва да се замразят до изследването.
- Пробите могат да се размразяват само два пъти.
- За повторно тестване ги замразете в аликвоти и изхвърлете всяка проба след първото размразяване.

X. ПРОЦЕДУРА

A. Общи бележки

Не използвайте кита или компонентите му след датата на изтичане срока на годност. Не смесвайте материали от различни партии китове. Преди употреба оставете всички реагенти на стайна температура. Внимателно смесвайте всички реагенти с пробите чрез нежно раклачане или въртливо размесване. За да избегнете кръстосана контаминация, използвайте чист пипетен накрайник за еднократна употреба за добавянето на всеки реагент към съответната проба. Високо прецизираните пипети или автоматичните пипети биха подобрили точността. Съобразявайте се с времето за инкубация. Подгответе калибрационна крива за всяко измерване и не използвайте данни от предишни измервания.

B. Процедура

1. Означете две по две покритите епруветки за всеки калибратор, контрола и проба. За определяне на общия брой импулси, обозначете 2 нормални епруветки.
2. Разклатете за кратко време калибраторите, контролите и пробите и разпределете по 200 µl от всяко в съответните епруветки.
3. Разпределете 50 µl от анти-СТ-¹²⁵I трейсер във всяка епруветка, включително и в епруветките без покритие за общия брой импулси.
4. Разтърсете нежно с ръка стойката с епруветките, за да освободите някое остатъчно въздушно мехурче.
5. Инкубирайте за 18 ± 1 часа при 2-8°C.
6. Отделете епруветките за определяне на общия брой импулси и аспирирайте съдържанието на покритите епруветки. Уверете се, че сте отстранили цялата течност, останалите капки увеличават преброяванията в минута на фона.
7. Измийте епруветките два пъти с 2 ml Измиващ разтвор и аспирирайте. Избягвайте разпенване при добавянето на измиващ разтвор. При ръчна процедура по измиването първо аспирирайте пясната и след това течността. При автоматизиран цикъл на измиване се препоръчва непрекъсната аспирация. Прецизността се подобрява чрез аспириране на епруветките за втори път две минути след изпразването на последната епруветка.
8. Отчетете епруветките в гама брояч за 60 секунди.

XI. ИЗЧИСЛЯВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

1. Изчислете средното аритметично на резултатите, получени от две по две епруветките.
2. На полулогаритмична или линейна диаграма върху графична хартия нанесете (на ординатата) броят на минута за всеки калибратор (общ брой импулси в минута) спрямо (на абсцисата) съответната концентрация на СТ и начертайте калибрационна крива през калибрационните точки като не включвате точките, които очевидно не принадлежат към тази крива.
3. Прочетете концентрациите за всяка контрола и проба чрез интерполиране върху калибрационната крива.
4. Тези изчисления могат да се улеснят чрез асистирано редуциране на данните посредством компютър. Ако се използва автоматична обработка на резултатите, се препоръчва прилагането на 4-параметрова логистична функционална крива.

XII. ХАРАКТЕРНИ ДАННИ

Данните, изложени по-долу са само за илюстрация и никога не бива да се използват вместо истинската калибрационна крива.

CT-US.-IRMA		срп	В/Т (%)
Общ брой		306174	100
Калибратор	0 pg/ml	259	0,08
	8,2 pg/ml	1872	0,61
	17,2 pg/ml	4467	1,46
	44,8 pg/ml	11091	3,62
	154,0 pg/ml	39847	13,01
	674,0 pg/ml	148740	48,58

XIII. ИЗПЪЛНЕНИЕ И ОГРАНИЧЕНИЯ

A. Определен лимит

Двадесет нулеви калибратора са били изпитани заедно с комплект от други калибратори. Определения лимит, дефиниран като явната концентрация на две стандартни отклонения над средния брой при нулево свързване, е бил 0,9 pg/ml.

B. Специфичност

Чрез това изследване се тестват и някои хормони с потенциална кръстосана реактивност. При концентрации до 100 pg/ml нито един от следните хормони не демонстрира значителна кръстосана реактивност:

- CGRP (кодируем чрез гена на калцитонина пептид);
- Калцитонин от съомга
- PDN 21
- Прокалцитонин с краен N.

C. Прецизност

ПО ВРЕМЕ НА ИЗПИТВАНЕТО МЕЖДУ ИЗПИТВАНЕТО

Серум	N	<X>±S.D. pg/ml	CV (%)	Серум	N	<X>±S.D. pg/ml	CV (%)
A	10	76.1 ± 2.1	2.7	A	10	26.9 ± 2.5	9.3
B	10	337.4 ± 6.5	1.9	B	10	128.8 ± 6.0	4.6

SD : Стандартно отклонение; CV: Коэффициент на вариация

D. Точност

ВЪЗСТАНОВИТЕЛЕН ТЕСТ

Добавен СТ (pg/ml)	Измерена концентрация СТ (pg/ml)	Възстановяване (%)
0		
6	6.1	101.7
15.5	16.0	103.2
48	48.5	101.0
142.5	138.7	97.3
500	517.7	103.5

ТЕСТ С РАЗРЕЖДАНЕ

Разреждане	Теоретична концентрация (pg/ml)	Измерена концентрация (pg/ml)	Възстановяване (%)
1/1		396.0	-
1/2	198.0	193.6	97.8
1/4	99.0	92.3	93.2
1/8	49.5	49.3	99.6
1/16	24.8	23.6	95.4
1/32	12.4	12.1	97.8
1/64	6.2	6.4	103.4

F. Ефект на кукичката

Сигналът на серумна проба със заострена концентрация на синтетичен калцитонин 500 000 pg/ml надвишава сигнала на най-високата концентрация на калибратора.

Не беше наблюдаван ефект на кукичката при серумни проби, съдържащи до 16500 pg/mL нативен калцитонин.

Препоръчва се разреждането на пробите над 100 pg/mL да се извършва с несъдържащия СТ човешки серум, включен в кита. Пробите трябва да се разреждат в серии 1:10.

При здравите лица, пациентите с медуларен тироиден карцином или други тумори се наблюдават различни имунохимични форми на калцитонина.

Размерът на тези форми може да варира при различните типове и поради това те да се отнасят различно при имунотестове и тестове с разреждане.

XIV. ОГРАНИЧЕНИЯ

- Проби от пациенти, които са приели препарати от миши моноклонални антитела за диагностика или лечение, могат да съдържат човешки анти-миши антитела (НАМА). Тези проби могат да покажат или фалшиво повишени, или намалени стойности, когато се тестват с китове, които използват миши моноклонални антитела.
 - Хетерофилните антитела в човешкия серум могат да реагират с реагентните имуноглобулини, смущавайки ин витро имунотестовите. Пациенти, рутинно изложени на животни или на продукти от животински серум, могат да бъдат предразположени към тези смущения и могат да се наблюдават аномални стойности в случай на наличие на хетерофилни антитела. Внимателно преценявайте резултатите на пациенти, за които има подозрения, че имат от тези антитела.
- Ако резултатите не са съвместими с други клинични наблюдения, ще се изисква допълнителна информация преди поставяне на диагноза.

XV. ОГРАНИЧЕНИЯ

- Проби от пациенти, които са приели препарати от миши моноклонални антитела за диагностика или лечение, могат да съдържат човешки анти-миши антитела (НАМА). Тези проби могат да покажат или фалшиво повишени, или намалени стойности, когато се тестват с китове, които използват миши моноклонални антитела.
 - Хетерофилните антитела в човешкия серум могат да реагират с реагентните имуноглобулини, смущавайки ин витро имунотестовите. Пациенти, рутинно изложени на животни или на продукти от животински серум, могат да бъдат предразположени към тези смущения и могат да се наблюдават аномални стойности в случай на наличие на хетерофилни антитела. Внимателно преценявайте резултатите на пациенти, за които има подозрения, че имат от тези антитела.
- Ако резултатите не са съвместими с други клинични наблюдения, ще се изисква допълнителна информация преди поставяне на диагноза.

XVI. ВЪТРЕШЕН КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ

- Ако резултатите, получени за Контрола 1 и/или Контрола 2 не са в рамките на нивото, указано на етикета на флакона, то резултатите не могат да бъдат използвани, освен ако не се предостави задоволително обяснение на това несъответствие.
- По желание, всяка лаборатория може да си направи собствен комплект от контролни проби, които трябва да се съхраняват замразени в кратни съотношения.
- Критериите за приемане на разликата от двойните резултати на пробите трябва да се опират на Добрата Лабораторна Практика.

XVII. РЕФЕРЕНТНИ ИНТЕРВАЛИ

Нормални стойности

Стойностите, показани по-долу, са предоставени само за напътствие; всяка лаборатория трябва да установи свои собствени нормални обхвати на стойности.

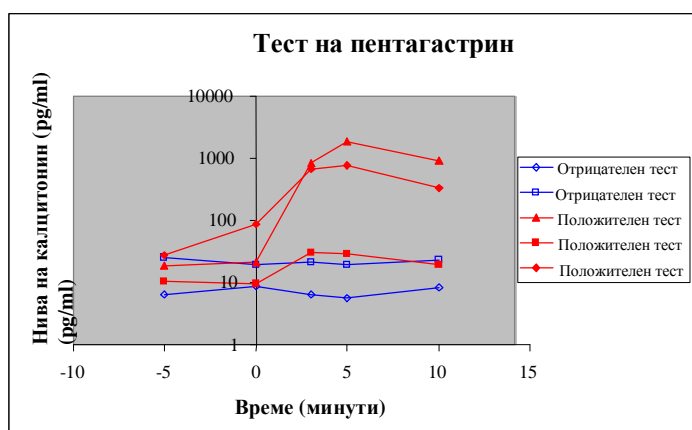
Тези стойности имат само указателен характер, всяка лаборатория трябва да определи свой собствен нормален обхват на стойностите.

Диапазоните се изразяват в проценти: от 2.5% до 97.5%.

Идентификация	Брой	Средно аритметично (pg/ml)	Стандартно отклонение (pg/ml)	Диапазон (pg/ml)
Мъже	94	5,7	2,3	1,9 – 9,6
Жени	98	3,5	1,9	0,5 – 7,8
Всички	192	4,6	2,4	0,9 – 9,5

Изследване на пентагастрин:

Пациенти с ниски базови нива на калцитонин:



При пациенти с медуларен тироиден карцином и други малигнени заболявания тестът с разреждане на проби с калцитонин може да показва нелинеен ход, това може да се дължи на модифицирана форма на калцитонина (полимери и/или гликозилирани форми), която не се разпознава напълно от нашите антитела.

XVIII. ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Безопасност

Само за *in vitro* диагностика.

Този набор съдържа ^{125}I (полуживот: 60 дни), емитираш йонизиращи X (28 keV) и γ (35.5 keV) лъчения.

Този радиоактивен продукт може да се пренася и да се използва само от оторизирани лица; поукпката, съхранението, употребата и размяната на радиоактивни продукти са предмет на законодателството на държавата, на крайния потребител. Този продукт не бива в никакъв случай да се прилага на хора или животни.

Боравенето с радиоактивния продукт трябва да се извършва в определена за целта територия, далеч от регулярни зони на преминаване. В лабораторията трябва да се поддържа дневник за получаването и съхранението на радиоактивни материали. Лабораторната екипировка и стъклария, които могат да бъдат контаминирани с радиоактивни субстанции, трябва да бъдат отделени с цел да се избегне кръстосана контаминация с различни радиоизотопи.

Всякакви радиоактивни пръски трябва да се почистват незабавно в съответствие с процедурите за радиационна безопасност. Радиоактивните отпадъци трябва да се извърлят, следвайки местните наредби и ръководства на властите, упражняващи юрисдикцията, над лабораториите. Придържането към основните правила за радиационна безопасност осигуряват адекватна защита.

Човешките кръвни компоненти, включени в кита, са били тествани чрез одобрени от Европейски и/или FDA (Американска агенция по храните и лекарствата) методи и са дали отрицателен резултат за HbsAg, анти-HCV, анти-HIV-1 и 2. Няма известен метод, който да дава пълна гаранция за това, че човешките кръвни деривати не пренасят хепатит, СПИН или други инфекции. Ето защо, боравенето със реагентите, серумните или плазмените проби трябва да бъде в съответствие с местните процедури по безопасност.

Всички животински продукти и деривати са били събирани от здрави животни. Волските компоненти са с произход от страни, където BSE (волска серумна енцефалопатия) не е била установявана. Независимо от

това, компонентите, съдържащи животински субстанции трябва да се третираат като потенциално инфекциозни.

Избягвайте каквото и да било кожен контакт с реагентите (съдържат натриев азид като консервант). Азидът в този кит може да реагира с оловото и медта във водопроводните инсталации като по този начин се получават силно експлозивни метални азиди. По време на измивния етап, промийте със силна и обилна струя вода канализацията, за да избегнете формирането на азиди.

Не пушете, не пийте, не яжте и не си слагайте козметика в работната територия. Не пинетирайте с уста. Използвайте защитно облекло и ръкавици за еднократна употреба.

1. GRAZE K., SPILER I.J., TASHIJAN A.H., MELVIN K.E.W., CERVI-SKINNER S., GAGEL R.F., MILLER H.H., WOLFE H.J., DELELLIS R.A., LEAPE L., FELDMAN Z.T. and REICHLIN S. (1978)
Natural history of familial medullary thyroid carcinoma; Effect of a program for early diagnosis.
Engl. J. Med., 299,18:980-985.
2. HENNESSY J.F., WELLS S.A., ONTJES D.A. and COOPER C.W. (1974)
A comparison of pentagastrin injection and calcium infusion as provocative agents for the detection of medullary carcinoma of the thyroid.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 39:487-495.
3. ROUGIER Ph., CALMETTES C., LAPLANCHE A., TRAVAGLI J.P., LEFEVRE M., PARMENTIER C., MILHAUD G. and TUBIANA M. (1983)
the values of calcitonin and carcinoembryonic antigen in the treatment and management of nonfamilial medullary thyroid carcinoma.
Cancer, 51,5:856-862.
4. WALLACH S.R., ROYSTON I., TAETLE R., WOHL H. and DEFTOS L. (1981)
Plasma calcitonin as a marker of disease activity in patients with small cell carcinoma of the lung.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 53,3:602-606.
5. WELLS S.A., BAYLIN S.B., LINEHAN W.M., FARRELL R.E., COX E.B. and COOPER C.W. (1978)
Provocative agents and the diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland.
Ann. Surg., 188,2:139-141.
6. AURBACH G.D., MARX S.J. and SPIEGEL A.M. (1985)
Parathyroid hormone, calcitonin, and the calciferols.
In: williams Textbook of endocrinology (7th edition; Wilson J.D. and foster D.W. eds) W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1137-1217.
7. BODY J.J. et al. (1987)
SCC antigen and other tumor markers in lung cancer: preliminary results.
Excerpta Medica, 162-170.
8. ELIARD, P.H. (1989)
Evaluation of a highly sensitive two-site immunoradiometric assay (IRMA) for human calcitonin (hCT): comparison with the RIA's for hCT and for the carboxyl-terminal flanking peptide (PDN-21) of the hCT gene.
71th Annual meeting of the Endocrine Society, Seattle, Washington, Abst. N° 1800 p472.
9. NICOLI P. et al. (1995)
Abnormal calcitonin basal levels and pentagastrin response in patients with chronic renal failure on maintenance hemodialysis.
Eur. J. Endocrinol. 132, 1, 75-81.
10. PACINI F. et al. (1994)
Routine measurement of serum calcitonin in modular disease allows the preoperative diagnosis of unsuspected sporadic medullary thyroid carcinoma.
J. Clin. Endocrinol. Metab. Excerpta Medica, 78, 4, 824-9.
11. QUESADA J. M. et al. (1994)
Calcitriol corrects deficient calcitonin secretion in the Vit. D deficient elderly.
J. Bone Miner Res. 9, 1, 53-57.

XIX. ОБОБЩЕНИЕ НА ПРОТОКОЛА

	ОБЩА АКТИВНОСТ µl	КАЛИБРАТОРИ µl	ПРОБА (И) КОНТРОЛИ µl
Калибратори (0-5) Проби, контроли Трейсьър	- - 50	200 - 50	- 200 50
Инкубация	18 ± 1 часа при 2-8°C		
Сепарация	-	аспирирайте	
Измиващ разтвор	-	2,0 ml	
Сепарация	-	аспирирайте	
Измиващ разтвор	-	2,0 ml	
Сепарация	-	аспирирайте	
Броене	Отчетете епруветките за 60 секунди		

DIASource каталог номер: KIP0429	P.I. номер: 1700541/bu	Номер на ревизия: 120914/1
-------------------------------------	---------------------------	-------------------------------

Дата на ревизия: 2012-09-14

Дата на ревизия: 2005-02-11

For Informational/Research Purposes Only

Használat előtt olvassa el a teljes használati utasítást.

CT-U.S.-IRMA

I. VIZSGÁLAT CÉLJA

Immunradiometriás eljárás emberi vérsavó vagy kalcitonin-tartalmának (CT) *in vitro* mennyiségi meghatározására.

II. ÁLTALÁNOS INFORMÁCIÓK

- A. **Bejegyzett név :** DIASource CT-U.S.-IRMA Reagenskészlet
- B. **Katalógusszám :** KIP0429: 96 vizsgálat
- C. **Gyártó :** DIASource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

Gyakorlati jellegű vagy rendeléssel kapcsolatos kérdésekkel hívja a következő számot :

Tel : +32 (0)10 84.99.11

Fax : +32 (0)10 84.99.91

III. KLINIKAI HÁTTER

A kalcitonin (CT) egy 32 aminosavból álló peptid hormon, amit a vér kalciumszintjétől függő mennyiségben a pajzsmirigy parafollikuláris C-sejtjei termelnek. A kalcitonin bejuttatása a szervezetbe fokozza a vese kalcium-ürítését, és csökkenti a csontok reszorpcióját, ezáltal csökkenti vér kalcium-, és foszfát-koncentrációját. Pontos élettani szerepe a csontok anyagcseréjében azonban nem tisztázott.

A vérből a kalcitonin több különböző formája is kimutatható, többek között monomer CT, oxidált monomer, dimer, nagyobb molekulatömegű formák, és esetlegesen a CT előanyaga is. A felsorolt peptidek koncentrációi függenek az egészségi állapottól, a veseműködéstől, és attól, hogy a CT melyik szövetből származik (normál agy ectopiás termelődés).

Medulláris pajzsmirigy carcinóma (MTC) egy a C-sejtekből kialakuló rosszindulatú daganat, ami a kalcitonint nagy feleslegben termeli. A betegség lehet sporadikus (80%) vagy öröklött (20%). Az utóbbi lehet autoszomális domináns öröklődésű, vagy multiplex endokrin neoplázia (MEN) része (IIB típus).

Terhesség, vészes vérszegénység, veseelégtelenség, esetén, valamint újszülött korban is előfordulhat kissé emelkedett kalcitonin-szint. Ez a vizsgálat a CT monomer formáját mutatja ki.

A kalcitonin-koncentráció itt leírt IRMA eljárással végzett mérése alkalmas:

- Medulláris pajzsmirigy carcinóma (MTC) diagnosztizálására
- Rosszindulatú daganatos megbetegedésben szenvedő betegek megfigyelésére, a műtét sikerességének ellenőrzésére, a tumor kiújulásának kimutatására
- az MTC öröklött formájának preklinikai felismerésére (MEN II, más néven Sipple-szindróma) stimulációs vizsgálatok segítségével (kalcium, vagy pentagastrin)
- a kalcium-foszfát-, és a csontanyagcsere kórélettanának vizsgálatára.

IV. A MÓDSZER ELVE

A DIAsource Calcitonin-U.S. IRMA egy reagenssel bevont csövekben végzett immunradiometriás vizsgálat. A műanyag csövek alsó részének belső felületére az emberi calcitonin jellegzetes epitópjaira specifikus monoklonális ellenanyagokat kötöttek. A csövekbe bemért kalibrátorok és minták CT-tartalma ezekhez az ellenanyagokhoz kötődik. A radioaktívan jelölt ellenanyagot (tracer) rögtön ezután kell bemérni a csövekbe, majd inkubáció következik, ami alatt lezajlik az immunreakció. A csövek tartalmát ezután el kell távolítani, majd át kell mosni őket, hogy a felesleges, meg nem kötött ellenanyag eltávozzon. A csövekben mért radioaktivitás egyenesen arányos a kalibrátorok és a minták kiindulási calcitonin-koncentrációjával.

V. A REAGENSZLET TARTALMA

Reagens	Mennyiség	Szín	Hígítás
Monoklonális anti-CT ellenanyaggal borított csövek	2 x 48	kék	Használatra kész.
Ab ¹²⁵ I	1 ampulla 5,5 ml 720 kBq	piros	Használatra kész.
¹²⁵ I-dal jelölt monoklonális anti-CT-ellenanyag (tracer) TRIS pufferben szarvasmarha szérumban albuminnal, azid (<0.1%) és piros festékkel			
CAL N	6 ampulla liofilizált	sárga	Adjon hozzá 1 ml desztillált vizet
Kalibrátor 0-5, calcitonin-mentes emberi vérsavóban gentamycinnel és thymollal (a pontos értékeket lásd az ampullák címkéin)			
SERUM	1 ampulla liofilizált	fekete	Adjon hozzá desztillált vizet (a mennyiséget lásd a címkén)
CT-mentes emberi vér-savóban minták hígításához gentamycinnel és thymollal			
WASH SOLN CONC	1 ampulla 10 ml	barna	Hígítsa 70x desztillált vízzel (használjon mágneses keverőt)
Mosóoldat (TRIS-HCl)			
CONTROL N	2 ampulla liofilizált	ezüst	Adjon hozzá 1 ml desztillált vizet
Kontroll 1 és 2, emberi savó gentamycinnel és thymollal			

Note : 1. A CT-mentes savó a minták hígítására szolgál.
2. 1 pg referenciakészítmény megfelel 0,19 µIU 2nd IS 89/620 nemzetközi standardnak.

VI. A FELHASZNÁLÓ ÁLTAL BIZTOSÍTOTT ESZKÖZÖK

A következő eszközöket a készlet nem tartalmazza, de szükségesek a vizsgálat elvégzéséhez:

1. Desztillált víz
2. 50 µl, 200 µl és 1 ml bemérésére alkalmas pipetták. (ajánlott pontos pipetták és eldobható műanyag pipettahegyek használata)
3. Vortex
4. Mágneses keverő
5. 5 ml automata fecskendő (Cornwall) a mosáshoz
6. Vízlégszivattyú (választható).
7. Bármely, ¹²⁵I mérésére képes gamma-sugármérő (minimális hozam 70%).

VII. REAGENSEK ELŐKÉSZÍTÉSE

- A. Kalibrátorok :** Oldja fel a kalibrátorokat 1 ml desztillált vízben.
- B. Kontrollok :** Oldja fel a kontrollokat 1 ml desztillált vízben.
- C. CT-mentes savó:** Oldja fel a CT-mentes savót desztillált vízben. (a mennyiséget lásd a címkén)
- D. Hígított mosóoldat:** Készítsen megfelelő mennyiségű hígított mosóoldatot úgy, hogy 69 rész desztillált vízhez 1 rész mosóoldatot kever (70x). Homogenizálja mágneses keverő segítségével. A napi vizsgálatok végétével öntse ki a megmaradt hígított mosóoldatot.

VIII. A REAGENSEK TÁROLÁSA ÉS ELTARTHATÓSÁGA

- Felnyitás és feloldás nélkül a reagens 2-8°C-on tárolva a címkén feltüntetett időpontig eltartható.
- A kalibrátorokat, kontrollokat, és a CT-mentes savót a feloldás és az első használat után azonnal fagyassza le, ezután -20°C-on 3 hónapig felhasználható. Csak egyszer szabad lefagyasztani és felolvasztani őket, ezért a második használat után dobja ki a maradékokat.
- A frissen készült hígított mosóoldatot még aznap fel kell használni.
- Amennyiben a tracet az eredeti, jól lezárt ampullában 2-8°C-on tárolja, akkor a címkén feltüntetett időpontig eltartható.
- A reagens fizikai tulajdonságainak megváltozása valószínűleg azt jelzi, hogy megromlottak.

IX. MINTAVÉTEL ÉS ELŐKÉSZÍTÉS

- A vizsgálathoz savóminták használható.
- Ne használjon haemolizált mintákat.
 - Ne használjon lipaemiás mintákat.
 - Ha ismert vagy várható, hogy egy minta CT-szintje magasabb a legnagyobb kalibrátorénál, hígítsa a CT-mentes savóval úgy, hogy CT-koncentrációja a mérési tartományba essen.
 - Ha a mintákat nem tudja a vérvétel napján megvizsgálni, ajánlott őket a vizsgálatig lefagyasztani.
 - A mintákat csak egyszer olvassa fel.
 - Hogy a vizsgálat ismételtető legyen, ossza el a mintát többfelé. A felolvasztás és a vizsgálat után a maradékot dobja ki.

X. ELJÁRÁS

A. Tudnivalók

Ne használja a reagensket a lejárat idejükön túl. Ne keverjen össze eltérő gyártási számú reagenskészletekből származó anyagokat. Használat előtt várja meg, amíg a reagens szobahőmérsékletre melegednek. Óvatos mozgattással vagy keveréssel alaposan homogénizálja a reagensket. Minden reagens és minta beméréséhez használjon tiszta eldobható pipettahegyet, hogy elkerülje az anyagok beszennyeződését. Nagypontosságú pipetták, vagy automata pipettázó készülék használata javítja a vizsgálat pontosságát. Tartsa be a megadott inkubációs időket. Minden vizsgálathoz készítsen új kalibrációs görbét, ne használja korábbi mérések adatait.

B. A vizsgálat menete

1. Feliratozzon 2-2 csövet a kalibrátorok, a minták és a kontrollok számára. A teljes radioaktivitás méréséhez használjon 2 reagens nélküli csövet
2. Homogenizálja a kalibrátorokat, a kontrollokat, és a mintákat, majd mérjen be belőlük 200 µl-t a megfelelő csövekbe.
3. Mérjen 50 µl anti-CT-¹²⁵I ellenanyagot (tracer) minden csöbe (a reagens nélküliekbe is).
4. Kézzel óvatosan rázza meg a kémcsőállványt.
5. Inkubálja a csöveket 18 ± 1 órán át 2-8°C-on.
6. Tegye félre a teljes radioaktivitás mérésére szolgáló csöveket, a többi cső tartalmát pedig szívja le. Mindenképpen távolítsa el az összes folyadékot a csövekből, mert a bennük maradó cseppek növelik a háttérrel a méréskor.
7. Mossa a csöveket kétszer 2 ml mosóoldattal, majd szívja le a folyadékot. Vigyázzon, hogy a mosóoldat beméréskor ne habosodjon. Kézi mosáskor először szívja le a habréteget, majd utána a folyadékot. Automatával végzett mosás esetén folyamatos folyadéktávolítás javasolt. A pontosság azzal javítható, ha a folyadékot másodszor is leszívja 2 perccel az utolsó cső tartalmának eltávolítása után.
8. Mérje a radioaktivitást gamma-sugármérővel 60 másodpercig.

XI. EREDMÉNYEK KISZÁMÍTÁSA

1. Számolja ki a párhuzamos mérések átlagát.
2. A fél-logaritmikusság vagy a lineáris diagramon ábrázoljon minden egyes kalibrátort. Az x tengelyen a calcitonin (CT) koncentráció, az y tengelyen a cpm szerepel. Rajzolja meg a kalibrációs görbét, kihagyva azokat a pontokat, amelyek nagyon eltérnek a görbe vonalától.
3. Interpolációval olvassa le a kalibrációs görbéről a kontrollok és a minták calcitonin-koncentráció értékeit. Az adatok számítógépes értékelése egyszerűbb. Ha automatikusan az adatfeldolgozást választja, a 4-paraméteres logisztikus görbeillesztési eljárás javasolt.

XII. JELLEMZŐ MÉRÉSI EREDMÉNYEK

A következő adatok csak példaként szolgálnak, soha ne használja őket a valós idejű kalibráció helyett.

CT-U.S.-IRMA		cpm	B/T x 100 (%)
Teljes radioaktivitás		306174	100
Kalibrátor	0 pg/ml	259	0,08
	8,2 pg/ml	1872	0,61
	17,0 pg/ml	4467	1,46
	44,8 pg/ml	11091	3,62
	154,0 pg/ml	39847	13,01
	674,0 pg/ml	148740	48,58

XIII. A VIZSGÁLAT JELLEMZŐI ÉS KORLÁTAI

A. A kimutathatóság alsó határa

Hús 0 kalibrátort vizsgáltak meg más kalibrátorokkal együtt. A kimutathatóság alsó határa 0,9 pg/ml-nek bizonyult, ami a 0 kalibrátorok cpm értékeinek átlagából számolható ki a standard deviáció kétszeresének hozzáadásával.

B. Specifitás

Néhány, a reakciót potenciálisan zavaró hormon hatását vizsgálták meg. 100 ng/ml koncentrációig a következő hormonok egyike sem mutatott jelentős mértékű zavaró hatást:

- CGRP
- Lazac-kalcitonin
- PDN 21
- Prokalcitonin N-terminálisa.

C. Reprodukálhatóság

VIZSGÁLATON BELÜLI				VIZSGÁLATOK KÖZÖTTI			
Savó	N	X ± S.D. (pg/ml)	CV %	Savó	N	X ± S.D. (pg/ml)	CV %
A	10	76,1 ± 2,1	2,7	A	10	26,9 ± 2,5	9,3
B	10	337,4 ± 6,5	1,9	B	10	128,8 ± 6,0	4,6

SD : Standard deviáció; CV: variációs koefficiens

D. Pontosság

VISSZANYERÉSI VIZSGÁLAT

Hozzáadott kalcitonin (pg/ml)	CT Mért koncentráció (pg/ml)	Visszanyerés (%)
0		
6	6,1	101,7
15,5	16,0	103,2
48	48,5	101,0
142,5	138,7	97,3
500	517,7	103,5

HÍGÍTÁSI VIZSGÁLAT

Hígítás	Elméleti koncentráció (pg/ml)	Mért koncentráció (pg/ml)	Visszanyerés (%)
1/1		396,0	-
1/2	198,0	193,6	97,8
1/4	99,0	92,3	93,2
1/8	49,5	49,3	99,6
1/16	24,8	23,6	95,4
1/32	12,4	12,1	97,8
1/64	6,2	6,4	103,4

E. Kioltási effektus („Hook effect”)

Egy 500.000 pg/ml preparált kalcitonin-koncentrációjú minta a vizsgálat során a legnagyobb kalibrátornál nagyobb értéket ad.

A legfeljebb 16500 pg/mL natív kalcitonint tartalmazó savóminták nem mutattak kioltási effektust.

Javasolt a 100 pg/ml-nél nagyobb koncentrációjú mintákat a készlethez mellékelte kalcitoninmentes emberi savóval felhígítani. A mintákat fokozatosan kell hígítani 1:10 hígítási arányig.

Az egészséges alanyokban és a medulláris pajzsmirigy carcinómával (MTC) vagy egyéb tumorról élő betegekben a kalcitonin eltérő immunokémiai formában van jelen.

Ezeknek a formáknak a mérete típusonként változó lehet, ezért azok különbözőképpen reagálhatnak az immunvizsgálatokra és hígítási tesztekre.

XIV. KORLÁTOZÁSOK

– Az olyan betegektől származó minták, akik – a diagnózis vagy a terápia miatt – egér monoklonális antitestekből készült készítményeket kaptak, humán antiéger antitesteket (HAMA) tartalmazhatnak. Az ilyen minták – ha azokat egér monoklonális antitesteket alkalmazó vizsgálati kitékkel tesztelik – vagy hamisan magas, vagy hamisan alacsony értékeket mutathatnak.

– A humán szérumban jelen lévő heterophil antitestek reakcióba léphetnek a reagens immunglobulinjeivel, vagyis megzavarhatják az in vitro immunvizsgálatokat.

A rutinszerűen az állatok, illetve állati szérumból készült termékek hatásának kitett betegek hajlamosak lehetnek az ilyen jellegű interferenciára, egyszersmind akár anomáliás értékek is megfigyelhetők heterophil antitestek jelenlétében. Körültekintően kell kiértékelni azoknak a betegeknek az eredményét, akiknél gyanítható, hogy ilyen antitestük van.

Ha az eredmények nem összeegyeztethetők a többi klinikai megfigyeléssel, a diagnózis felállítás előtt további adatokra van szükség.

XV. BELSŐ MINŐSÉGELLENŐRZÉS

– Ha a kontroll 1-re és 2-re kapott eredmények kívül esnek az ampullák címkéin feltüntetett tartományon, a vizsgálat eredményei nem felhasználhatók, kivéve, ha ismert az eltérés pontos oka.

– Igény esetén bármely laboratórium készíthet egy saját, kontrollként szolgáló savópoolt, amit azután szétszítva, lefagyaszthatja kell tárolni. Kerülje a minták egynél többszöri lefagyasztását és felolvasztását.

– A párhuzamos vizsgálatok eredményei közötti eltérés elfogadható mértékét a GLP (Good Laboratory Practises) alapján kell meghatározni.

XVI. REFERENCIA-TARTOMÁNY

Normál értékek

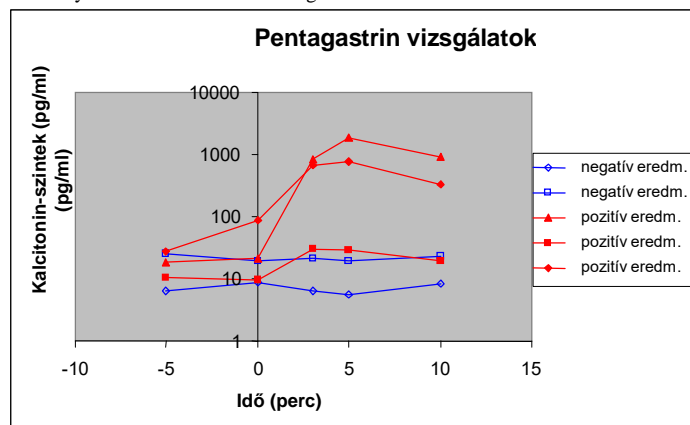
Az alábbi értékek csak irányadó jellegűek, minden laboratóriumnak meg kell határozni saját referenciatartományát.

Az referenciatartomány a 2,5%-os és a 97,5%-os percentilis értékek közé esik.

Azonosítás	N	Átlag (pg/ml)	SD (pg/ml)	Tartomány (pg/ml)
Férfiak	94	5,7	2,3	1,9 - 9,6
Nők	98	3,5	1,9	0,5 - 7,8
Összesen	192	4,6	2,4	0,9 - 9,5

Pentagastrin vizsgálat:

Alacsony kiindulási CT-szintű betegek:



A medulláris pajzsmirigy carcinómával élő betegek, valamint az egyéb malignitással élő betegek nem lineáris hígítási tesztet produkálhatnak a kalcitoninmintára – ez a kalcitonin módosított formájának (polimerek és/vagy glikozilált formák) tudható be, melyet nem teljesen ismernek fel az antitestek.

XVII. MUNKAVÉDELEM

Biztonsági előírások

Csak in vitro diagnosztikai felhasználásra.

A kit röntgen (28 keV) és gamma (35,5 keV) sugárzó ¹²⁵I izotópot (felezési idő: 60 nap) tartalmaz.

A reagenskészletben található radioaktív anyagot csak arra jogosult személyek vehetik át és használhatják fel. Radioaktív termékek beszerzésére, tárolására, használatára, és cseréjére az adott ország törvényei érvényesek. A reagens alkalmazása emberekre és állatokon is minden körülmények között tilos.

Minden, radioaktív reagenssel végzett műveletet egy arra kijelölt, elkülönített helyen kell elvégezni. A laboratóriumba érkezett radioaktív anyagok átvételéről és tárolásáról vezetett jegyzőkönyvet a laboratórium területén kell tartani. Azokat a laboratóriumi eszközöket és üvegedényeket, amelyek radioaktív anyaggal szennyeződtek, különítse el, hogy elkerülje a különböző radioizotópokkal történő keresztszennyeződést.

Amennyiben bármilyen radioaktív anyag kiömlik, azonnal takarítsa fel az erre vonatkozó előírásoknak megfelelő módon. A keletkező radioaktív hulladékot a helyi szabályoknak és az illetékes hatóságok erre vonatkozó útmutatásának megfelelően kell kidobni. Ha betartja a radioaktív anyagok kezelésére vonatkozó alapvető szabályokat, megfelelően védett lesz a sugárfertőzéstől.

A készlet emberi vérből készült reagensit európai szabványok szerinti és/vagy az FDA által minősített módszerrel HBsAg-tól, valamint anti-HCV, és anti-HIV-1 és 2 ellenanyagoktól mentesnek találták. Azonban egyetlen ma ismert módszer alapján sem állítható biztosan, hogy az emberi vérből készült anyagok nem okozhatnak hepatitisz B esetet. Ezért minden ilyen reagenst és minden savó-, illetve plazmamintát a fertőző anyagokra vonatkozó helyi biztonsági előírásoknak megfelelően kell kezelni.

Minden állati eredetű reagens és termék egészséges állatokból származik. A szarvasmarha eredetű reagens olyan országokból származnak, ahonnan eddig nem jelentettek BSE esetet. Ennek ellenére minden állati eredetű anyagot tartalmazó reagenst potenciálisan fertőzésveszélyesként kell kezelni.

Vigyázzon, hogy a reagens bőrre ne kerüljenek (tartósítószer: nátrium-azid). A reagensben található nátrium-azid robbanásveszélyes fém-azidokat képezhet ólom és réz csövezetek anyagával. A csövek mosásakor nagy mennyiségű vízzel együtt öntse ki ezeket az anyagokat, hogy megelőzze az azid felgyülemelését.

Ne dohányozzon, ne fogyasszon ételt vagy italt, illetve ne használjon kozmetikumokat a laboratóriumban. Ne pipettázzon szájjal. Munka közben viseljen laborköpenyt és egyszer használatos kesztyűt.

XVIII. IRODALOM

- GRAZE K., SPILER I.J., TASHIJAN A.H., MELVIN K.E.W., CERVI-SKINNER S., GAGEL R.F., MILLER H.H., WOLFE H.J., DELELLIS R.A., LEAPE L., FELDMAN Z.T. and REICHLIN S. (1978)
Natural history of familial medullary thyroid carcinoma; Effect of a program for early diagnosis.
Engl. J. Med., 299,18:980-985.
- HENNESSY J.F., WELLS S.A., ONTJES D.A. and COOPER C.W. (1974)
A comparison of pentagastrin injection and calcium infusion as provocative agents for the detection of medullary carcinoma of the thyroid.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 39:487-495.
- ROUGIER Ph., CALMETTES C., LAPLANCHE A., TRAVAGLI J.P., LEFEVRE M., PARMENTIER C., MILHAUD G. and TUBIANA M. (1983)
the values of calcitonin and carcinoembryonic antigen in the treatment and management of nonfamilial medullary thyroid carcinoma.
Cancer, 51,5:856-862.
- WALLACH S.R., ROYSTON I., TAETLE R., WOHL H. and DEFTOS L. (1981)
Plasma calcitonin as a marker of disease activity in patients with small cell carcinoma of the lung.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 53,3:602-606.
- WELLS S.A., BAYLIN S.B., LINEHAN W.M., FARRELL R.E., COX E.B. and COOPER C.W. (1978)
Provocative agents and the diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland.
Ann. Surg., 188,2:139-141.
- AURBACH G.D., MARX S.J. and SPIEGEL A.M. (1985)
Parathyroid hormone, calcitonin, and the calciferols.
In: Williams Textbook of endocrinology (7th edition; Wilson J.D. and foster D.W. eds) W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1137-1217.
- BODY J.J. et al. (1987)
SCC antigen and other tumor markers in lung cancer: preliminary results.
Excerpta Medica, 162-170.
- ELIARD, P.H. (1989)
Evaluation of a highly sensitive two-site immunoradiometric assay (IRMA) for human calcitonin (hCT): comparison with the RIA's for

hCT and for the carboxyl-terminal flanking peptide (PDN-21) of the hCT gene.

71th Annual meeting of the Endocrine Society, Seattle, Washington, Abst. N° 1800 p472.

- NICOLI P. et al. (1995)
Abnormal calcitonin basal levels and pentagastrin response in patients with chronic renal failure on maintenance hemodialysis.
Eur. J. Endocrinol. 132, 1, 75-81.
- PACINI F. et al. (1994)
Routine measurement of serum calcitonin in modular disease allows the preoperative diagnosis of unsuspected sporadic medullary thyroid carcinoma.
J. Clin. Endocrinol. Metab. Excerpta Medica, 78, 4, 824-9.
- QUESADA J. M. et al. (1994)
Calcitriol corrects deficient calcitonin secretion in the Vit. D deficient elderly.
J. Bone Miner Res. 9, 1, 53-57.

XIX. AZ ELJÁRÁS ÖSSZEFOGLALÁSA

	TELJES RADIOAK- TIVITÁS µl	KALIBRÁTOROK µl	MINTÁK µl
Kalibrátorok (0-5) Minták Tracer	- - 50	200 - 50	- 200 50
Inkubáció	18 ± 1 óráig 2-8°C-on		
Folyadék eltávolítása Mosóoldat Folyadék eltávolítása Mosóoldat Folyadék eltávolítása	- - - - -		leszívás 2,0 ml leszívás 2,0 ml leszívás
Mérés	Radioaktivitás mérése 60 másodpercig		

DIASource Katalógusszám : KIP0429	P.I. Szám : 1700541/hu	Verziószám : 120914/1
--------------------------------------	---------------------------	--------------------------

Frissítés időpontja : 2012-09-14

	Used symbols
	Consult instructions for use
	Storage temperature
	Use by
LOT	Batch code
REF	Catalogue number
CONTROL	Control
IVD	In vitro diagnostic medical device
	Manufacturer
	Contains sufficient for <n> tests
WASH SOLN CONC	Wash solution concentrated
CAL 0	Zero calibrator
CAL N	Calibrator #
CONTROL N	Control #
Ag 125I	Tracer
Ab 125I	Tracer
Ag 125I CONC	Tracer concentrated
Ab 125I CONC	Tracer concentrated
	Tubes
INC BUF	Incubation buffer
ACETONITRILE	Acetonitrile
SERUM	Serum
DIL SPE	Specimen diluent
DIL BUF	Dilution buffer
ANTISERUM	Antiserum
IMMUNOADSORBENT	Immunoabsorbent
DIL CAL	Calibrator diluent
REC SOLN	Reconstitution solution
PEG	Polyethylene glycol
EXTR SOLN	Extraction solution
ELU SOLN	Elution solution
GEL	Bond Elut Silica cartridges
PRE SOLN	Pre-treatment solution
NEUTR SOLN	Neutralization solution
TRACER BUF	Tracer buffer
µTIT	Microtiterplate
Ab HRP	HRP Conjugate
Ag HRP	HRP Conjugate
Ab HRP CONC	HRP Conjugate concentrate
Ag HRP CONC	HRP Conjugate concentrate
CONJ BUF	Conjugate buffer
CHROM TMB CONC	Chromogenic TMB concentrate
CHROM TMB	Chromogenic TMB solution
SUB BUF	Substrate buffer
STOP SOLN	Stop solution
INC SER	Incubation serum
BUF	Buffer
Ab AP	AP Conjugate
SUB PNPP	Substrate PNPP
BIOT CONJ CONC	Biotin conjugate concentrate
AVID HRP CONC	Avidine HRP concentrate
ASS BUF	Assay buffer
Ab BIOT	Biotin conjugate
Ab	Specific Antibody
SAV HRP CONC	Streptavidin HRP concentrate
NSB	Non-specific binding
2nd Ab	2nd Antibody
ACID BUF	Acidification Buffer
DIST	Distributor
TRAY	Incubation trays
PMSF	PMSF solution
	Protect from light
STRIP	Dot Strip
SUB	Substrate
CART	Cartridge
WASH SOLN	Wash buffer

For Informational/Research Purposes Only

	<u>Symboles utilisés</u>
	Consulter les instructions d'utilisation
	Température de conservation
	Utiliser jusqu'à
LOT	Numéro de lot
REF	Référence de catalogue
CONTROL	Contrôle
I V D	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Fabricant
	Contenu suffisant pour <n> tests
WASH SOLN CONC	Solution de lavage concentrée
CAL 0	Calibrateur zéro
CAL N	Calibrateur #
CONTROL N	Contrôle #
Ag 125I	Traceur
Ab 125I	Traceur
Ag 125I CONC	Traceur concentré
Ab 125I CONC	Traceur concentré
	Tubes
INC BUF	Tampon d'incubation
ACETONITRILE	Acétonitrile
SERUM	Sérum
DIL SPE	Diluant du spécimen
DIL BUF	Tampon de dilution
ANTISERUM	Antisérum
IMMUNOADSORBENT	Immunoabsorbant
DIL CAL	Diluant de calibrateur
REC SOLN	Solution de reconstitution
PEG	Glycol Polyéthylène
EXTR SOLN	Solution d'extraction
ELU SOLN	Solution d'élution
GEL	Cartouches Bond Elut Silica
PRE SOLN	Solution de pré-traitement
NEUTR SOLN	Solution de neutralisation
TRACEUR BUF	Tampon traceur
TIT	Microplaque de titration
Ab HRP	HRP Conjugué
Ag HRP	HRP Conjugué
Ab HRP CONC	HRP Conjugué concentré
Ag HRP CONC	HRP Conjugué concentré
CONJ BUF	Tampon conjugué
CHROM TMB CONC	Chromogène TMB concentré
CHROM TMB	Solution chromogène TMB
SUB BUF	Tampon substrat
STOP SOLN	Solution d'arrêt
INC SER	Sérum d'incubation
BUF	Tampon
Ab AP	AP Conjugué
SUB PNPP	Tampon PNPP
BIOT CONJ CONC	Biotine conjugué concentré
AVID HRP CONC	Avidine HRP concentré
ASS BUF	Tampon de test
Ab BIOT	Biotine conjugué
Ab	Anticorps spécifique
SAV HRP CONC	Concentré streptavidine HRP
NSB	Liant non spécifique
2nd Ab	Second anticorps
ACID BUF	Tampon d'acidification

	<u>Gebruikte symbolen</u>
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing
	Bewaartemperatuur
	Houdbaar tot
LOT	Lotnummer
REF	Catalogusnummer
CONTROL	Controle
I V D	Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek
	Fabrikant
	Inhoud voldoende voor <n> testen
WASH SOLN CONC	Wasoplossing, geconcentreerd
CAL 0	Nulkalibrator
CAL N	Kalibrator #
CONTROL N	Controle #
Ag 125I	Tracer
Ab 125I	Tracer
Ag 125I CONC	Tracer geconcentreerd
Ab 125I CONC	Tracer geconcentreerd
	Buisjes
INC BUF	Incubatiebuffer
ACETONITRILE	Acetonitrile
SERUM	Serum
DIL SPE	Specimen diluent
DIL BUF	Verdunningsbuffer
ANTISERUM	Antiserum
IMMUNOADSORBENT	Immunoabsorbent
DIL CAL	Kalibratorverdunner
REC SOLN	Reconstitutieoplossing
PEG	Polyethyleen glycol
EXTR SOLN	Extractieoplossing
ELU SOLN	Elutieoplossing
GEL	Bond Elut Silica kolom
PRE SOLN	Pre-behandelingsoplossing
NEUTR SOLN	Neutralisatieoplossing
TRACEUR BUF	Tracerbuffer
U U	Microtiterplaat
Ab HRP	HRP Conjuugaat
Ag HRP	HRP Conjuugaat
Ab HRP CONC	HRP Conjuugaat geconcentreerd
Ag HRP CONC	HRP Conjuugaat geconcentreerd
CONJ BUF	Conjuugaat buffer
CHROM TMB CONC	Chromogene TMB geconcentreerd
CHROM TMB	Chromogene Oplossing TMB
SUB BUF	Substraatbuffer
STOP SOLN	Stopoplossing
INC SER	Incubatieserum
BUF	Buffer
Ab AP	AP Conjuugaat
SUB PNPP	Substraat PNPP
BIOT CONJ CONC	Geconcentreerd Biotine conjuugaat
AVID HRP CONC	Geconcentreerd Avidine-HRP conjuugaat
ASS BUF	Assay buffer
Ab BIOT	Biotine conjuugaat
Ab	Specifiek antilichaam
SAV HRP CONC	Streptavidine-HRP concentraat
NSB	Aspecifieke binding
2nd Ab	2de antilichaam
ACID BUF	Verzuringbuffer

	<u>Gebrauchte Symbolen</u>
	Gebrauchsanweisung beachten
	Lagern bei
	Verwendbar bis
LOT	Chargenbezeichnung
REF	Bestellnummer
CONTROL	Kontrolle
I V D	In Vitro Diagnostikum
	Hersteller
	Ausreichend für <n> Ansätze
WASH SOLN CONC	Waschlösung-Konzentrat
CAL 0	Null kalibrator
CAL N	Kalibrator #
CONTROL N	Kontrolle #
Ag 125I	Tracer
Ab 125I	Tracer
Ag 125I CONC	Tracer Konzentrat
Ab 125I CONC	Tracer Konzentrat
	Röhrchen
INC BUF	Inkubationspuffer
ACETONITRILE	Azetonitril
SERUM	Humanserum
DIL SPE	Probenverdünner
DIL BUF	Verdünnungspuffer
ANTISERUM	Antiserum
IMMUNOADSORBENT	Immunadsorbens
DIL CAL	Kalibratorverdünnung
REC SOLN	Rekonstitutionslösung
PEG	Polyethylenglykol
EXTR SOLN	Extraktionslösung
ELU SOLN	Eluierungslösung
GEL	Bond Elut Silikakartuschen
PRE SOLN	Vorbehandlungslösung
NEUTR SOLN	Neutralisierungslösung
TRACEUR BUF	Tracer-Puffer
U	Mikrotiterplatte
Ab HRP	HRP Konjugat
Ag HRP	HRP Konjugat
Ab HRP CONC	HRP Konjugat Konzentrat
Ag HRP CONC	HRP Konjugat Konzentrat
CONJ BUF	Konjugatpuffer
CHROM TMB CONC	Chromogenes TMB Konzentrat
CHROM TMB	Farblösung TMB
SUB BUF	Substratpuffer
STOP SOLN	Stopplösung
INC SER	Inkubationsserum
BUF	Puffer
Ab AP	AP Konjugat
SUB PNPP	Substrat PNPP
BIOT CONJ CONC	Biotin-Konjugat-Konzentrat
AVID HRP CONC	Avidin-HRP-Konzentrat
ASS BUF	Assaypuffer
Ab BIOT	Biotin-Konjugat
Ab	Spezifischer Antikörper
SAV HRP CONC	HRP Streptavidinkonzentrat
NSB	Unspezifische Bindung
2nd Ab	Sekundärer Antikörper
ACID BUF	Ansäuerungspuffer

	<u>Simboli utilizzati</u>
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Limitazioni di temperatura
	Utilizzare entro
LOT	Numero di lotto
REF	Numero di catalogo
CONTROL	Controllo
I V D	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Fabbricante
	Contenuto sufficiente per <n> saggi
WASH SOLN CONC	Tampone di lavaggio concentrato
CAL 0	Calibratore zero
CAL N	Standard #
CONTROL N	Controllo #
Ag 125I	Marcato
Ab 125I	Marcato
Ag 125I CONC	Marcato concentrato
Ab 125I CONC	Marcato concentrato
	Provette
INC BUF	Tampone incubazione
ACETONITRILE	Acetonitrile
SERUM	Siero
DIL SPE	Diluyente campione
DIL BUF	Tampone diluizione
ANTISERUM	Antisiero
IMMUNOADSORBENT	Immunoassorbente
DIL CAL	Diluyente calibratore
REC SOLN	Soluzione di ricostituzione
PEG	Poli(etil)englicole
EXTR SOLN	Soluzione di estrazione
ELU SOLN	Soluzione di eluizione
GEL	Cartucce di silice bond elut
PRE SOLN	Soluzione di pretrattamento
NEUTR SOLN	Soluzione di neutralizzazione
TRACEUR BUF	Tracer Buffer
TUT	Piastra di microtitolazione
Ab HRP	HRP Coniugato
Ag HRP	HRP Coniugato
Ab HRP CONC	HRP Coniugato concentrato
Ag HRP CONC	HRP Coniugato concentrato
CONJ BUF	Buffer coniugato
CHROM TMB CONC	Cromogena TMB concentrato
CHROM TMB	Soluzione cromogena TMB
SUB BUF	Tampone substrato
STOP SOLN	Soluzione di arresto
INC SER	Incubazione con siero
BUF	Buffer
Ab AP	AP Coniugato
SUB PNPP	Substrato PNPP
BIOT CONJ CONC	Concentrato coniugato con biotina
AVID HRP CONC	Concentrato avidina HRP
ASS BUF	Soluzione tampone per test
Ab BIOT	Coniugato con biotina
Ab	Anticorpo Specifico
SAV HRP CONC	Streptavidina-HRP concentrata
NSB	Legame non-specifico
2nd Ab	2° Anticorpo
ACID BUF	Tampone Acidificante

	Símbolos utilizados
	Consultar las instrucciones de uso
	Limitación de temperatura
	Fecha de caducidad
LOT	Código de lote
REF	Número de catálogo
CONTROL	Control
IVD	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Fabricante
	Contenido suficiente para <n> ensayos
WASH SOLN CONC	Solución de lavado concentrada
CAL 0	Calibrador cero
CAL N	Calibrador #
CONTROL N	Control #
Ag 125l	Trazador
Ab 125l	Trazador
Ag 125l CONC	Trazador concentrada
Ab 125l CONC	Trazador concentrada
	Tubos
INC BUF	Tampón de incubación
ACETONITRILE	Acetonitrilo
SERUM	Suero
DIL SPE	Diluyente de Muestra
DIL BUF	Tampón de dilución
ANTISERUM	Antisuero
IMMUNOADSORBENT	Inmunoadsorbente
DIL CAL	Diluyente de calibrador
REC SOLN	Solución de Reconstitución
PEG	Glicol Polietileno
EXTR SOLN	Solución de extracción
ELU SOLN	Solución de elución
GEL	Cartuchos Bond Elut Sílica
PRE SOLN	Solución de Pre-tratamiento
NEUTR SOLN	Solución de Neutralización
TRACEUR BUF	Tampón de trazador
PLU	Placa de microvaloración
Ab HRP	HRP Conjugado
Ag HRP	HRP Conjugado
Ab HRP CONC	HRP Conjugado concentrada
Ag HRP CONC	HRP Conjugado concentrada
CONJ BUF	Tampón de Conjugado
CHROM TMB CONC	Cromógena TMB concentrada
CHROM TMB	Solución Cromógena TMB
SUB BUF	Tampón de sustrato
STOP SOLN	Solución de Parada
INC SER	Suero de Incubación
BUF	Tampón
Ab AP	AP Conjugado
SUB PNPP	Sustrato PNPP
BIOT CONJ CONC	Concentrado de conjugado de biotina
AVID HRP CONC	Concentrado avidina-HRP
ASS BUF	Tampón de ensayo
Ab BIOT	Conjugado de biotina
Ab	Anticuerpo específico
SAV HRP CONC	Estreptavidina-HRP Concentrado
NSB	Unión no específica
2nd Ab	Segundo anticuerpo
TRAY	Bandejas de incubación
PMSF	PMSF
DIST	Distributor
	Proteger de la luz
ACID BUF	Tampón de Acidificación

	<u>Símbolos utilizados</u>
	Consulte instruções de utilização
	Temperatura de conservação
	Utilizar antes de
LOT	Código de lote
REF	Número de catálogo
CONTROL	Controlo
I V D	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
	Fabricante
	Conteúdo suficiente para <n> testes
WASH SOLN CONC	Solução de lavagem concentrada
CAL 0	Calibrador zero
CAL N	Calibrador #
CONTROL N	Controlo #
Ag 125I	Marcador
Ab 125I	Marcador
Ag 125I CONC	Marcador concentrada
Ab 125I CONC	Marcador concentrada
	Tubos
INC BUF	Tampão de incubação
ACETONITRILE	Acetonitrilo
SERUM	Soro
DIL SPE	Diluidor de espécimes
DIL BUF	Tampão de diluição
ANTISERUM	Anti-soro
IMMUNOADSORBENT	Imunoadsorvente
DIL CAL	Diluyente do calibrador
REC SOLN	Solução de Reconstituição
PEG	Poli(etil)eno-glicol
EXTR SOLN	Solução de Extração
ELU SOLN	Solução de Eluição
GEL	Cartuchos de sílica Bond Elut
PRE SOLN	Solução de pré-tratamento
NEUTR SOLN	Solução de neutralização
TRACEUR BUF	Tampão Marcador
TIT	Placa de micro titulação
Ab HRP	HRP Conjugação
Ag HRP	HRP Conjugação
Ab HRP CONC	HRP Conjugação concentrada
Ag HRP CONC	HRP Conjugação concentrada
CONJ BUF	Conjuge o tampão
CHROM TMB CONC	Cromogénica TMB concentrada
CHROM TMB	Solução Cromogénica TMB
SUB BUF	Tampão de substrato
STOP SOLN	Solução de Paragem
INC SER	Soro de incubação
BUF	Tampão
Ab AP	AP Conjugação
SUB PNPP	Substrato PNPP
BIOT CONJ CONC	Concentrado conjugado de biotina
AVID HRP CONC	Concentrado HRP de avidina
ASS BUF	Tampão de ensaio
Ab BIOT	Conjugado de biotina
Ab	Anticorpo específico
SAV HRP CONC	Estreptavidina HRP concentrado
NSB	Ligações não específicas
2nd Ab	Anticorpo secundário
ACID BUF	Tampão de acidificação

	Επεξήγηση συμβόλων
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
	Θερμοκρασία αποθήκευσης
	Ημερομηνία λήξης
LOT	Αριθμός παρτίδας
REF	Αριθμός καταλόγου
CONTROL	Πρότυπο ελέγχου
I V D	In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Κατασκευαστής
	Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις
WASH SOLN CONC	Συμπυκνωμένο διάλυμα έκπλυσης
CAL 0	Μηδενικός βαθμονομητής
CAL N	Βαθμονομητής #
CONTROL N	Ορός ελέγχου #
Ag 125I	Ιχνηθέτης
Ab 125I	Ιχνηθέτης
Ag 125I CONC	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης
Ab 125I CONC	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης
	Σωληνάριο
INC BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης
ACETONITRILE	Ακετονιτρίλιο
SERUM	Ορός
DIL SPE	Διάλυμα αραίωσης δειγμάτων
DIL BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα αραίωσης
ANTISERUM	Αντιορός
IMMUNOADSORBENT	Ανοσοπροσροφητικό
DIL CAL	Αραιωτικό βαθμονομητών
REC SOLN	Διάλυμα ανασυστασης
PEG	Πολυ(εθιλενογλυκόλη)
EXTR SOLN	Διάλυμα εκχύλισης
ELU SOLN	Διάλυμα έκλυσης
GEL	Φύσιγγες πυριτίου Bond Elut
PRE SOLN	Διάλυμα προεπεξεργασίας
NEUTR SOLN	Διάλυμα εξουδετέρωσης
TRACEUR BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα
μπλ	Πλάκα μικροτιτλοδότησης
Ab HRP	HRP Σύζευγμα
Ag HRP	HRP Σύζευγμα
Ab HRP CONC	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα
Ag HRP CONC	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα
CONJ BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα συζεύγματος
CHROM TMB CONC	Χρωμογόνος TMB
CHROM TMB	Διάλυμα χρωμογόνου TMB
SUB BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
STOP SOLN	Ανασχετικό αντιδραστήριο
INC SER	Ορός επώασης
BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα
Ab AP	AP Σύζευγμα
SUB PNPP	PNPP υποστρώματος
BIOT CONJ CONC	Συμπυκνωμένο αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη
AVID HRP CONC	Συμπυκνωμένο διάλυμα αβιδίνης-HRP
ASS BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού
Ab BIOT	αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη
Ab	Ειδικό Αντίσωμα
SAV HRP CONC	Συμπυκνωμένη στρεπταβιδίνη συνεξευγμένη με HRP
NSB	μη-ειδική δέσμευση
2nd Ab	2ο Αντίσωμα
ACID BUF	Ρυθμιστικό Διάλυμα όξινο

	<u>Använda symboler</u>
	Läs instruktionerna före användning
	Förvaringstemperatur
	Används av
LOT	Lotnummer
REF	Katalognummer
CONTROL	Kontroll
I V D	In vitro diagnostiskt kit
	Tillverkare
	Innehållet räcker till <n> prover
WASH SOLN CONC	Tvättlösning, koncentrerad
CAL 0	Nollkalibrerare
CAL N	Kalibrator #
CONTROL N	Kontroll #
Ag 125I	Radioisotop, antigen
Ab 125I	Radioisotop, antikropp
Ag 125I CONC	Radioisotop, antigen koncentrerad
Ab 125I CONC	Radioisotop, antikropp koncentrerad
	Rör
INC BUF	Inkuberingsbuffert
ACETONITRILE	Acetonitril
SERUM	Serum
DIL SPE	Spädningsbuffert för prover
DIL BUF	Spädningsbuffert
ANTISERUM	Antiserum
IMMUNOADSORBENT	Immunoadsorberare
DIL CAL	Kalibratordiluent
REC SOLN	Rekonstitutionslösning
PEG	Polyetylen glykol
EXTR SOLN	Extraktionslösning
ELU SOLN	Elueringslösning
GEL	Silikonpatroner för elueringsbindning
PRE SOLN	Förbehandlingslösning
NEUTR SOLN	Neutraliseringslösning
TRACEUR BUF	Tracerbuffert
U	Microtiterplatta
Ab HRP	HRP-konjugat
Ag HRP	HRP-konjugat
Ab HRP CONC	HRP-konjugat-koncentrat
Ag HRP CONC	HRP-konjugat-koncentrat
CONJ BUF	Konjugatbuffert
CHROM TMB CONC	Kromogeniskt TMB-koncentrat
CHROM TMB	Kromogenisk TMB-lösning
SUB BUF	Substratbuffert
STOP SOLN	Stoplösning
INC SER	Inkubationsserum
BUF	Buffert
Ab AP	AP-konjugat
SUB PNPP	Substrat-PNPP
BIOT CONJ CONC	Biotinkonjugat koncentrat
AVID HRP CONC	Avidin HRP-koncentrat
ASS BUF	Provbuffert
Ab BIOT	Biotinkonjugat
Ab	-
SAV HRP CONC	-
NSB	-
2nd Ab	-
ACID BUF	-

	<u>Stosowane symbole</u>
	Przed zastosowaniem zapoznać się z instrukcją
	Temperatura przechowywania
	Zużyć przed
LOT	Kod serii
REF	Numer katalogowy
CONTROL	Kontrola
I V D	Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro
	Producent
	Zawartość wystarczająca do <n> testów
WASH SOLN CONC	Roztwór płuczący stężony
CAL 0	Kalibrator zerowy
CAL N	Kalibrator nr
CONTROL N	Kontrola nr
Ag 125I	Znacznik izotopowy
Ab 125I	Znacznik izotopowy
Ag 125I CONC	Znacznik izotopowy stężony
Ab 125I CONC	Znacznik izotopowy stężony
	Probówki
INC BUF	Wymagana inkubacja buforu
ACETONITRILE	Acetonitryl
SERUM	Surowica
DIL SPE	Rozcieńczalnik próbki
DIL BUF	Bufor do rozcieńczania
ANTISERUM	Antysurowica
IMMUNOADSORBENT	Immunoabsorbent
DIL CAL	Rozcieńczalnik kalibratora
REC SOLN	Roztwór do rozcieńczania
PEG	Glikol poli(oksy)etylenowy
EXTR SOLN	Roztwór ekstrakcyjny
ELU SOLN	Roztwór elucyjny
GEL	Kolumny krzemionkowe Bond Elut
PRE SOLN	Roztwór do przygotowania wstępnego
NEUTR SOLN	Roztwór neutralizujący
TRACEUR BUF	Bufor znacznika
TUF	mikroplytka
Ab HRP	Koniugat peroksydazy chrzanowej
Ag HRP	Koniugat peroksydazy chrzanowej
Ab HRP CONC	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej
Ag HRP CONC	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej
CONJ BUF	Bufor do koniugacji
CHROM TMB CONC	Koncentrat chromogenu TMB (czterometylobenzodyny)
CHROM TMB	Roztwór chromogenu TMB (czterometylobenzodyny)
SUB BUF	Bufor substratu
STOP SOLN	Roztwór zatrzymujący reakcję
INC SER	Wymagana inkubacja surowicy
BUF	Bufor
Ab AP	Koniugat AP (fosfatazy alkalicznej)
SUB PNPP	p-nitrofenylofosforan substratowy
BIOT CONJ CONC	Koncentrat koniugatu biotyny
AVID HRP CONC	Koncentrat peroksydazy chrzanowej z awidyną
ASS BUF	Bufor do oznaczania
Ab BIOT	Koniugatu biotyny
Ab	Przeciwciało swoiste
SAV HRP CONC	Koncentrat streptawidyny HRP
NSB	Wiązanie nieswoiste
2nd Ab	Drugie przeciwciało
ACID BUF	Bufor zakwaszający

	<u>Използвани символи</u>
	Вижте инструкцията за работа
	Температура на съхранение
	Използвайте с
LOT	Партиден код
REF	Каталожен номер
CONTROL	Контрол
I V D	Ин витро диагностично медицинско изделие
	Производител
	Съдържание достатъчно за <n> теста
WASH SOLN CONC	Концентриран измиващ разтвор
CAL 0	Нулев калибратор
CAL N	Калибратор #
CONTROL N	Контрол #
Ag 125I	Трейсър
Ab 125I	Трейсър
Ag 125I CONC	Концентриран маркер
Ab 125I CONC	Концентриран маркер
	Епруветки
INC BUF	Инкубационен буфер
ACETONITRILE	Ацетонитрил
SERUM	Серум
DIL SPE	Разредител за пробите
DIL BUF	Буфер за разреждане
ANTISERUM	Антисерум
IMMUNOABSORBENT	Имуноабсорбент
DIL CAL	Разредител за калибратора
REC SOLN	Пресъздаващ разтвор
PEG	Полиетилен гликол
EXTR SOLN	Екстрактов разтвор
ELU SOLN	Разтвор за елюиране
GEL	Силикагелни пълнители
PRE SOLN	Пред-лечебен разтвор
NEUTR SOLN	Неутрализиращ разтвор
TRACEUR BUF	Маркерен буфер
ULF	Микротигърна пластина
Ab HRP	HRP конюгат / Конюгат на хрянова пероксидаза
Ag HRP	HRP конюгат / Конюгат на хрянова пероксидаза
Ab HRP CONC	HRP конюгиран концентрат
Ag HRP CONC	HRP конюгиран концентрат
CONJ BUF	Буфер за конюгата
CHROM TMB CONC	Хромогенен ТМВ концентрат
CHROM TMB	Хромогенен ТМВ разтвор
SUB BUF	Субстратен буфер
STOP SOLN	Стоп разтвор
INC SER	Инкубационен серум
BUF	Буфер
Ab AP	AP конюгат / конюгат на алкална фосфатаза
SUB PNPP	Субстрат PNPP / пара нитрофенил фосфат
BIOT CONJ CONC	Биотин конюгиран концентрат
AVID HRP CONC	Авидин HRP концентрат
ASS BUF	Буфер за пробите
Ab BIOT	Биотин конюгат
Ab	специфично анти тяло
SAV HRP CONC	стрептавидин HRP концентрат
NSB	не специфично свързване
2nd Ab	второ анти тяло
ACID BUF	киселинизиращ буфер

	<u>Használt szimbólumok</u>
	Olvassa el a használati útmutatót
	Tárolási hőmérséklet
	Lejárat idő
LOT	Gyártási kód
REF	Katalógus szám
CONTROL	Kontrol
I V D	In vitro diagnosztikai eszköz
	Gyártó
	Tartalma <n> teszt elvégzésére elegendő
WASH SOLN CONC	Mosó folyadék koncentrátum
CAL 0	Zero kalibrátor
CAL N	Kalibrátor #
CONTROL N	Kontrol #
Ag 125I	Nyomjelző izotóp
Ab 125I	Nyomjelző izotóp
Ag 125I CONC	Nyomjelző izotóp koncentrátum
Ab 125I CONC	Nyomjelző izotóp koncentrátum
	Csővek
INC BUF	Inkubáló puffer
ACETONITRILE	Acetonitril
SERUM	Szérum
DIL SPE	Mintahígító
DIL BUF	Hígító puffer
ANTISERUM	Antiszérum
IMMUNOADSORBENT	Immunadszorbens
DIL CAL	Kalibrátor hígító
REC SOLN	Mintaelőkészítő oldat
PEG	Poli(etilén)glikol
EXTR SOLN	Extrakciós oldat
ELU SOLN	Eluáló oldat
GEL	Bond Elut Silica szilikagél patronok
PRE SOLN	Előkezelő oldat
NEUTR SOLN	Semlegesítő oldat
TRACEUR BUF	Nyomjelző izotóp hígító puffer
μL	Mikrotiter lemez
Ab HRP	HRP konjugátum
Ag HRP	HRP konjugátum
Ab HRP CONC	HRP konjugátum koncentrátum
Ag HRP CONC	HRP konjugátum koncentrátum
CONJ BUF	Konjugátum puffer
CHROM TMB CONC	Kromogén TMB koncentrátum
CHROM TMB	Kromogén TMB oldat
SUB BUF	Szubsztrát puffer
STOP SOLN	Stop oldat
INC SER	Inkubációs szérum
BUF	Puffer
Ab AP	AP konjugátum
SUB PNPP	Szubsztrát PNPP
BIOT CONJ CONC	Biotin konjugátum koncentrátum
AVID HRP CONC	Avidin HRP koncentrátum
ASS BUF	Vizsgálati puffer
Ab BIOT	Biotin konjugátum
Ab	Specifikus ellenanyag
SAV HRP CONC	Sztreptavidin HRP koncentrátum
NSB	Nem-specifikus kötődés
2nd Ab	Másodlagos ellenanyag
ACID BUF	Savas puffer