



CT-U.S.-Irma

KIP0429

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 de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

For technical assistance or ordering information contact :
Tel : +32 (0)67 88.99.99 Fax : +32 (0)67 88.99.96

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			
<table border="1"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> Anti-CT- ¹²⁵ I (monoclonal antibodies) in TRIS Buffer with bovine serum albumin, azide (< 0.1%) and inert red dye	Ab	¹²⁵ I	1 vial 5.5 ml 720 kBq	red	Ready for use	
Ab	¹²⁵ I					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Calibrators 0-5 in Calcitonin free human serum with gentamycin and thymol (see exact values on vial labels)	CAL	N	6 vials lyophil.	yellow	Add 1 ml distilled water	
CAL	N					
<table border="1"><tr><td>SERUM</td></tr></table> CT free human serum (to be used for samples dilution) with gentamycin and thymol	SERUM	1 vial lyophil.	black	Add distilled water (see the volume on the label)		
SERUM						
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Wash solution (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 vial 10 ml	brown	Dilute 70x with distilled water (use a magnetic stirrer).
WASH	SOLN	CONC				
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Controls 1 and 2 in human serum with gentamycin and thymol	CONTROL	N	2 vials lyophil.	silver	Add 1 ml distilled water	
CONTROL	N					

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 µIU 2nd IS 89/620.

VI. SUPPLIES NOT PROVIDED

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

- Distilled water
- Pipettes for delivery of: 50 µl, 200 µl and 1 ml. (the use of accurate pipettes with disposable plastic tips is recommended)
- Vortex mixer
- Magnetic stirrer
- 5 ml automatic syringe (Cornwall type) for washing
- Aspiration system (optional).
- 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**
- Label coated tubes in duplicate for each calibrator, sample and control. For the determination of total counts, label 2 normal tubes
 - Homogenize calibrators, controls, specimens and dispense 200 µl of each into the respective tubes.
 - Add 50 µl of anti-CT-¹²⁵I (tracer) to all tubes, including the uncoated tubes for total counts.
 - Shake the tube rack gently by hand.
 - Incubate for 18 ± 1 hours at 2-8°C.
 - 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..
 - 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.
 - Count tubes in a gamma counter for 60 seconds.

XI. CALCULATION OF RESULTS

- Calculate the mean of duplicate determinations.
- 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.
- 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 an intact calcitonin concentration of 230.000 pg/ml gives a signal above the highest calibrator concentration.

XIV. 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

XV. REFERENCE INTERVALS

Normal values

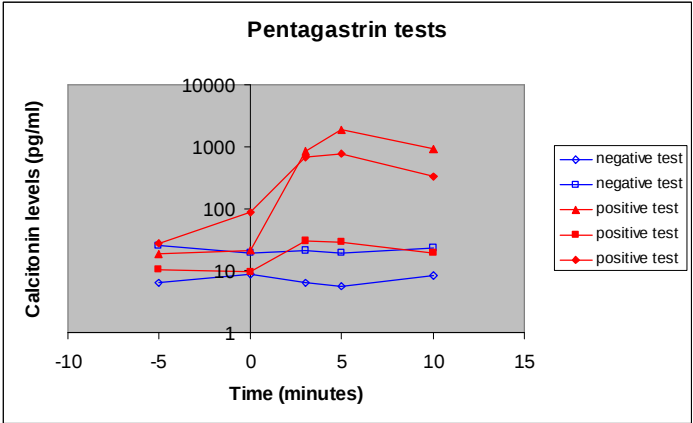
These values are given only for guidance; each laboratory should establish its own normal range of values.

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:



XVI. 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 radiosafety 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.

XVII. BIBLIOGRAPHY

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.

XVIII. SUMMARY OF THE PROTOCOL

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

DIASource Catalogue Nr : KIP0429	P.I. Number : 1700541/en	Revision nr : 091110/1
-------------------------------------	-----------------------------	---------------------------

Revision date: 2009-11-10

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 de l'Industrie, 8 B-1400 Nivelles Belgium.

Pour une assistance technique ou une information sur une commande :

Tel : +32 (0)67 88.99.99

Fax : +32 (0)67 88.99.96

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 plastic. 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 ¹²⁵I 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

- A. Calibrateurs :** Reconstituer les calibrateurs avec 1 ml d'eau distillée..
- B. Contrôles :** Reconstituer les contrôles avec 1 ml d'eau distillée.
- C. Sérum sans CT:** Réconstituer le sérum sans CT avec de l'eau distillée.
- D. 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 trousses 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 dopé avec de la CT jusqu'à 230 000 pg/ml donne des cpm supérieurs au dernier point de calibration.

XIV. CÔNTROLE 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.

XIV. VALEURS ATTENDUES

Valeurs normales

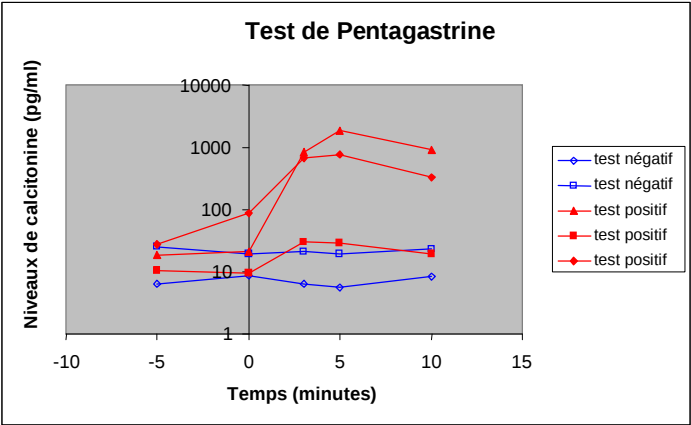
Les valeurs sont données à titre d'information; chaque laboratoire doit établir ses propres écarts de valeurs.

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

Identification 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:



XV. PRECAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

Sécurité

Pour utilisation en diagnostic *in vitro* uniquement. Cette trousse contient de I¹²⁵I (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.

XVII. BIBLIOGRAPHIE

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.

XVIII. RESUME DU PROTOCOLE

	ACTIVITE TOTALE (µl)	CALIBRA- TEURS (µl)	ECHANTIL- LON(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 : 091110/1
--	--------------------------------	----------------------------------

Date de révision : 2009-11-10

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. Gedeponiseerd handelsmerk:** DIAsource CT-U.S.-IRMA Kit
- B. Catalogusnummer:** KIP0429: 96 tests
- C. Geproduceerd door:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8 B-1400 Nivelles, België.

Voor technische assistentie of voor bestelinformatie kunt u contact opnemen met:
Tel.: +32 (0)67 88 99 99 - Fax: +32 (0)67 88 99 96

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 schildkliercarcinoom (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, pernicioze 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 schildkliercarcinoom (MTC).
- opvolging van kwaadaardige tumoren, om het succes van chirurgie en hervalling na te gaan.
- diagnose van medulair schildkliercarcinoom (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			
 Buisjes gecoat met anti-CT (monoklonale antilichamen)	2 x 48	blauw	Klaar voor gebruik			
<table border="1"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> TRACER: Anti-CT (monoklonale antilichamen) gelabeld met ¹²⁵ jood in TRIS buffer met bovien serumalbumine, azide (<0.1%) en een inerte rode kleurstof	Ab	¹²⁵ I	1 flacon 5,5 ml 720 kBq	rood	Klaar voor gebruik	
Ab	¹²⁵ I					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Kalibrator - N = 0 tot 5 (raadpleeg de flaconetiketten voor de exacte waarden) in calcitonine-vrij humaan serum, gentamycine en thymol	CAL	N	6 gevries- droogd	geel	1 ml gedestilleerd water toevoegen	
CAL	N					
<table border="1"><tr><td>SERUM</td></tr></table> CT-vrij humaan serum (te gebruiken voor verdunning van de stalen) met gentamycine en thymol	SERUM	1 vial lyophil.	zwart	Voeg gedestilleerd water toe (zie volume op het etiket)		
SERUM						
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Wasoplossing (Tris-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 flacon 10 ml	bruin	70 x met gedestilleerd water verdunnen (gebruik een magnetische roerder).
WASH	SOLN	CONC				
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Controles - N = 1 of 2 in humaan serum, gentamycine en thymol	CONTROL	N	2 flacons, gevries- droogd	zilver	1 ml gedestilleerd water toevoegen	
CONTROL	N					

Opmerking: 1. Gebruik CT-vrij humaan serum voor monsterverdunningen.
2. 1 pg van de kalibratorbereiding is gelijk aan 0,19 µIU 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 µl, 200 µl 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 ontdooien 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 pipetteerapparatuur 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 µl van elk in het desbetreffende buisje.
- 3. Voeg 50 µl 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 ± 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

- 1. Bereken het gemiddelde voor de bepalingen in duplo.
- 2. 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.

3. Lees door interpolatie de concentratie voor elke controle en voor elk monster op de kalibratiecurve.
4. 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 monster, dat met CT gespiket werd tot 230.000 pg/ml, levert hogere tellingen op dan het laatste kalibratiepunt.

XIV. 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.

XV. REFERENTIE-INTERVALS

Normale waarden

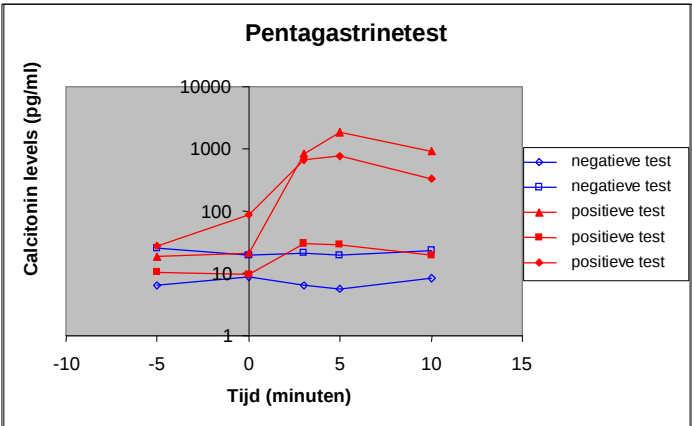
Deze waarden worden slechts als leidraad gegeven; elk laboratorium moet zijn eigen normaal bereik van waarden uitmaken.

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:



XVI. VOORZORGSMAATREGELEN EN WAARSCHUWINGEN

Veiligheid

Uitsluitend voor in vitro diagnostisch gebruik. Deze kit bevat ¹²⁵I (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.

XVII. BIBLIOGRAFIE

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.

XVIII. SAMENVATTING VAN HET PROTOCOL

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

DIASource catalogusnummer: KIP0429	Nummer van de bijsluiters: 1700541/nl	Revisienummer: 091110/1
--	---	----------------------------

Revisiedatum : 2009-11-10

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 de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgien.

Für technische Unterstützung oder Bestellungen wenden Sie sich bitte an:

Tel : +32 (0)67 88.99.99 Fax : +32 (0)67 88.99.96

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 Nierenfunktionsstörung 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"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> TRACER: ¹²⁵ Iodmarkierter Anti-CT (monoklonale Antikörper) in TRIS-puffer mit Rinderserum-albumin, 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"><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"><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"><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"><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:

- Dest. Wasser
- Pipetten: 50 µl, 200 µl und 1 ml (Verwendung von Präzisionspipetten mit Einwegpipettenspitzen wird empfohlen)
- 5 ml automatische Spritze (Cornwall Typ) zum Waschen
- Absaugsystem (optional)
- Vortex Mixer
- Magnetrührer
- 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**
- Beschriften Sie je 2 beschichtete Röhrchen für jeden Kalibrator, jede Probe und Kontrolle. Zur Bestimmung der Gesamtaktivität, beschriften Sie 2 normale Röhrchen.
 - Vortexen Sie Kalibratoren, Proben und Kontrollen kurz und geben Sie jeweils 200 µl in ihre Röhrchen.
 - Geben Sie 50 µl des Tracers in jedes Röhrchen.
 - Schütteln Sie vorsichtig die Halterung mit den Röhrchen um Blasen zu entfernen.
 - Inkubieren Sie 18 ± 1 Stunden bei 2 – 8 °C.
 - 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.
 - Waschen Sie die Röhrchen mit 2 ml Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab (oder dekantieren Sie). Vermeiden Sie Schaumbildung bei Zugabe der Waschlösung.
 - Saugen Sie den Inhalt jeden Röhrchens (außer Gesamtaktivität) ab (oder dekantieren Sie).
 - Waschen Sie die Röhrchen mit 2 ml Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab (oder dekantieren Sie).
 - Lassen Sie nach dem letzten Waschen die Röhrchen 2 Minuten aufrecht stehen und saugen Sie den verbleibenden Flüssigkeitstropfen ab.
 - 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 Probe mit CT bis zu 230.000 pg/ml liefert höhere Messwerte als der letzte Kalibratormesswert.

XIV. INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

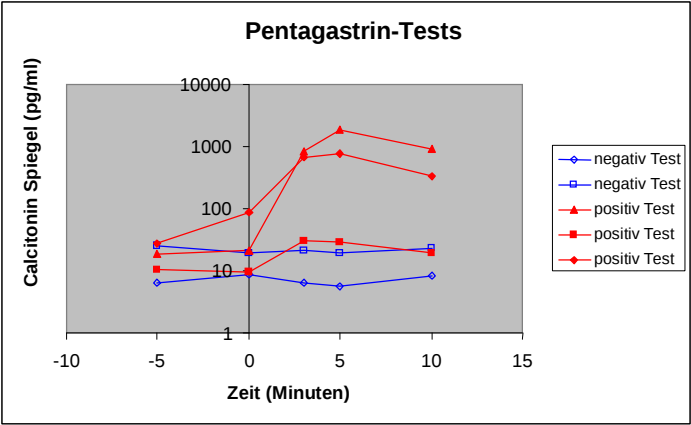
- Entsprechen die Ist-Werte nicht den auf den Fläschchen angegebenen Soll-Werten, können die Werte, ohne treffende Erklärung der Abweichungen, nicht weiterverarbeitet werden.
- Falls zusätzliche Kontrollen erwünscht sind, kann jedes Labor seinen eigenen Pool herstellen, der in Aliquots eingefroren werden 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.

XV. 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:



XV. 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 Laborausrüstung und die Glasbehälter, die mit radioaktiven Substanzen kontaminiert werden können, müssen ausgedüngert 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 Waschschrte 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.

XVII. LITERATUR

1. GRAZE K., SPILER I.J., TASHIJAN A.H., MELVIN K.E.W., CERVISKINNER 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.

XVIII. ZUSAMMENFASSUNG DES PROTOKOLLS

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

DIAsource Katalognummer : KIP0429	Beipackzettelnnummer: 1700541/de	Nummer der Originalausgabe: 091110/1
--------------------------------------	-------------------------------------	--

Revisionsdatum : 2009-11-10

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 de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgio.

Per informazioni tecniche o su come ordinare il prodotto contattare:
Tel: +32 (0) 67 88.99.99 Fax: +32 (0) 67 88.99.96

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 ipocalcemicico 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 perniziosa, disfunzione renale e durante il periodo neonatale. In questo dosaggio è stata preferibilmente rilevata la forma monomerica 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
Ab^{125I} Marcato: anti-CT (Anticorpi monoclonali) marcati con ¹²⁵I in tampone TRIS con BSA, sodio azide (<0.1%) e un colorante inerte rosso	1 flacone 5,5 ml 720 kBq	Rosso	Pronto per l'uso
CALN Calibratore 0-5 (le concentrazioni esatte degli calibratore sono riportate sulle etichette dei flaconi), in siero bovino privo di calcitonina, contenente timolo e gentamicina	6 flaconi liofiliz.	Giallo	Aggiungere 1 ml di acqua distillata
SERUM Siero umano privo di CT (da utilizzare per la diluizione dei campioni) contenente timolo e gentamicina	1 fiale liofiliz.	nero	Aggiungere acqua distillata (per il volume si veda l'etichetta)
WASHSOLNCONC Tampone di lavaggio (TRIS HCL)	1 flacone 10 ml	Bruno	Diluire 70 x con acqua distillata usando un agitatore magnetico
CONTROLN Controlli: N = 1 o 2, in siero umano, contenente timolo e gentamicina	2 flaconi liofiliz.	Argento	Aggiungere 1 ml di acqua distillata

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.

- Acqua distillata.
- Pipette per dispensare 50 µl, 200 µl e 1 ml (Si raccomanda di utilizzare pipette accurate con puntale in plastica monouso).
- Agitatore tipo vortex.
- Agitatore magnetico.
- Pipetta a ripetizione automatica 5 ml per i lavaggi.
- Sistema di aspirazione dei campioni (facoltativo).
- 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-scongelamento, 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

- 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.
- Agitare brevemente su vortex standard, campioni e controlli. Dispensare 200 µl di standard, campioni e controlli nelle rispettive provette.
- Dispensare 50 µl di marcato in tutte le provette.
- Scuotere delicatamente il portaprovette per liberare eventuali bolle d'aria intrappolate nel liquido contenuto nelle provette.
- Incubare 18 ± 1 ore a 2 - 8°C.
- 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.
- 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.
- Aspirare (o decantare) il liquido contenuto in tutte le provette, tranne in quelle per l'attività totale.
- 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).
- Dopo il secondo lavaggio lasciare decantare le provette in posizione verticale per due minuti circa e aspirare eventuali gocce di liquido residue.
- Contare tutte le provette per 1 minuto con il contatore gamma.

XI. CALCOLO DEI RISULTATI

- Calcolare la media delle determinazioni in duplicato.
- 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

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

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 ha cui è stata aggiunta CT fino a 230.000 pg/ml ha cpm superiori a quello dello standard più concentrato.

XIV. 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.

XV. INTERVALLI DI RIFERIMENTO

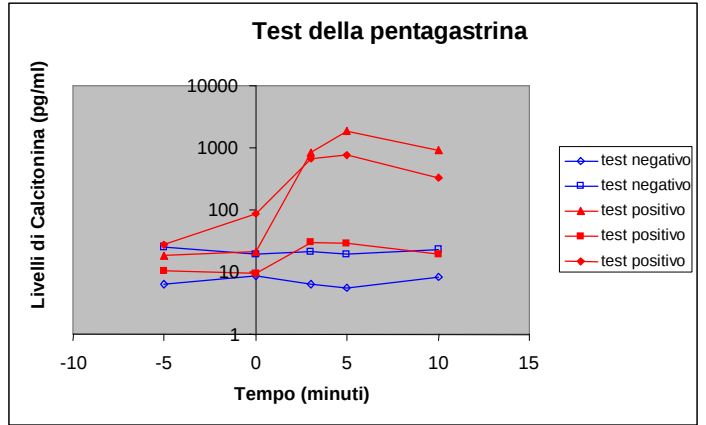
Valori normali

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:



XVI. 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.

XVII. RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. GRAZE K., SPILER I.J., TASHIJAN A.H., MELVIN K.E.W., CERVISKINER 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.

XVIII. SCHEMA DEL DOSAGGIO

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

Numero di catalogo di DIAsource : KIP0429	P.I. numero : 1700541/it	Revisione numero : 091110/1
--	-----------------------------	--------------------------------

Data di revisione : 2009-11-10

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 de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

Para cuestiones técnicas y información sobre pedidos contactar :

Tel : +32 (0)67 88.99.99

Fax : +32 (0)67 88.99.96

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

Nota: 1. Para diluciones de muestras utilizar suero humano sin CT.
2. 1 pg de la preparación del calibrador es equivalente a 0,19 µUI 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 50µl, 200µl 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 unos 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 µl de cada uno en sus respectivos tubos.
3. Añadir 50 µL del trazador en cada tubo, incluyendo los tubos destinados a las Cuentas Totales.
4. Agitar suavemente la gradilla de tubos.
5. Incubar durante 18 ± 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 linear 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 con un nivel de CT hasta 230.000 pg/ml presenta cuentas más elevadas que el último punto de calibración.

XIV. 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.

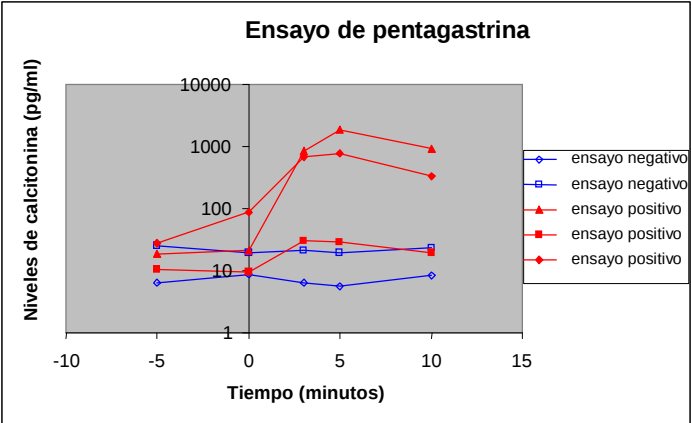
XV. INTERVALOS DE REFERENCIA

Valores normales

Estos valores solamente sirven de pauta; cada laboratorio tiene que establecer sus propios valores normales. Alcance basados en percentilos 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:



XVI. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

Seguridad
Para uso solo en diagnóstico in vitro.
Este kit contiene I¹²⁵ (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.

XVII. BIBLIOGRAFIA

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.

XVIII. RESUMEN DEL PROTOCOLO

	CUENTAS TOTALES (µl)	CALIBRADO RES (µl)	MUESTRA(S) CONTROL(S) (µl)
Calibradores (0 al 5)	-	200	-
Muestras, controles	-	-	200
Trazador	50	50	50
Incubación	18 ± 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 : 091110/1
------------------------------------	-----------------------------	---------------------------

Fecha de la revisión : 2009-11-10

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 de l'Industrie, 8 B-1400 Nivelles Belgium.

Para assistência técnica ou encomendas, contacte:
Tel : +32 (0)67 88 99 99 - Fax : +32 (0)67 88 99 96

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 perniciosa, 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			
<table border="1"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> Marcador: anti-CT marcado com ¹²⁵ I (Acs monoclonais) em tampão TRIS com soro bovino, albumina, azida (<0.1%) e corante inerte	Ab	¹²⁵ I	1 recipiente 5,5 ml 720 kBq	vermelho	Pronto a utilizar	
Ab	¹²⁵ I					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Calibrador - N = 0 a 5 (ver valores exactos nos rótulos dos recipientes) em soro humano sem calcitonina (CT) , gentamicina e timol	CAL	N	6 recipientes liofilizados	amarelo	Adicione 1 ml de água destilada	
CAL	N					
<table border="1"><tr><td>SERUM</td></tr></table> Soro humano sem CT (a utilizar na diluição de amostras) com gentamicina e timol	SERUM	1 recipiente liofil.	preto	Adicione água destilada (ver o volume no rótulo)		
SERUM						
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Solução de lavagem (Tris-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 recipiente 10 ml	castanho	Dilua 70 x com água destilada (use um agitador magnético).
WASH	SOLN	CONC				
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Controlos - N = 1 ou 2 Em soro humano, gentamicina e timol	CONTROL	N	2 recipientes liofilizados	prateado	Adicione 1 ml de água destilada	
CONTROL	N					

Note: 1. Use soro humano sem CT para as diluições de amostras.
2. 1 pg da preparação padrão é equivalente a1 0,19 µIU 2nd IS 89/620.

VI. MATERIAL NÃO FORNECIDO

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

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

VII. PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

- A. **Calibradores:** Reconstitua os calibradores com 1 ml de água destilada
- B. **Controlos:** Reconstitua os controlos com 1 ml de água destilada.
- C. **Soro sem CT:** Reconstitua o soro sem CT com água destilada. (ver o volume no rótulo)
- D. **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**
 1. Rotule os tubos revestidos em duplicado para cada calibrador, amostra e controlo. Para a determinação de contagens totais, rotule 2 tubos normais.
 2. Misture por breves momentos no misturador vortex calibradores, amostras, controlos e dispense 200 µl de cada para os tubos respectivos.
 3. Dispense 50 µl de marcador para cada tubo.
 4. Agite manualmente o tabuleiro (rack) que contém os tubos.
 5. Incube durante 18 ± 1 h à 2 – 8°C.
 6. 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.
 7. 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
 8. Aspire (ou decante) o conteúdo de cada tubo (excepto as contagens totais).
 9. Lave novamente os tubos com 2 ml da Solução de Lavagem de Trabalho (excepto as contagens totais) e aspire (ou decante).
 10. Após a última lavagem, deixe os tubos na posição vertical durante 2 minutos e aspire até à última gota de líquido.
 11. Conte os tubos no contador gama durante 60 segundos.

XI. CÁLCULO DOS RESULTADOS

- 1. Calcule a média das determinações em duplicado.
- 2. Em papel semilogaritmico 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.
- 3. Leia a concentração para cada controlo e amostra por interpolação na curva de calibração.
- 4. 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 da 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 com CT até 230.000 pg/ml apresenta contagens superiores ao último ponto de calibração.

XIV. 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.

XV. INTERVALOS DE REFERÊNCIA

Valores normais

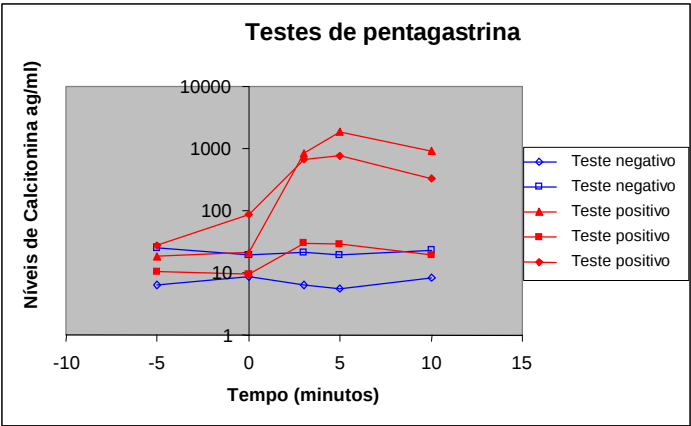
Estes valores são dados apenas a título de referência. Cada laboratório deverá estabelecer o seu próprio intervalo normal de valores.

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:



XVI. 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 radiossegurança. 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.

XVII. BIBLIOGRAFIA

1. GRAZE K., SPILER I.J., TASHIJAN A.H., MELVIN K.E.W., CERVISKINER 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.

XVIII. 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		

Nº de catalogo DIAsource : KIP0429	Nº de P.I. : 1700541/pt	Nº de revisão : 091110/1
---------------------------------------	----------------------------	-----------------------------

Data da revisão : 2009-11-10

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 de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

Για τεχνική βοήθεια ή πληροφορίες σχετικά με παραγγελίες επικοινωνήστε στα:
Τηλ.: +32 (0)67 88.99.99 Fax: +32 (0)67 88.99.96

III. ΚΛΙΝΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ

Η καλσιτονίνη (CT) είναι μια πεπτιδική ορμόνη 32 αμινοξέων που εκκρίνεται από τα παραθυλακιώδη C-κύτταρα του θυρεοειδούς αδένος 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 (Πb).

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	Χρωματικός κωδικός	Ανασύσταση
 Tubes coated with anti CT (monoclonal antibodies)	2 x 48	μπλε	Έτοιμο για χρήση
Ab ¹²⁵I 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
CAL N 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
SERUM 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)
WASH SOLN CONC Διάλυμα πλύσης (TRIS-HCl)	1 φιαλίδιο 10 ml	καφέ	Αραιώστε 70 x με απεσταγμένο νερό (χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα).
CONTROL N 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:

- Απεσταγμένο νερό
- Πιπέτες για διανομή: 50 µl, 200 µl και 1 ml. (συνιστάται η χρήση πιπετών ακριβείας με αναλώσιμα πλαστικά ρύγχη)
- Αναμεικτής στροβιλισμού
- Μαγνητικός αναδευτήρας
- Αυτόματη σύριγγα των 5 ml (τύπου Cornwall) για πλύση
- Σύστημα αναρρόφησης (προαιρετικό).
- Μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιοσδήποτε απαριθμητής 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 λιπαμικά 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 αναμειγνύετε υλικά από διαφορετικές παρτίδες κιτ. Φέρετε όλα τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση. Αναμείξτε καλά όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα με απαλή ανακίνηση ή ανάδευση. Χρησιμοποιείτε ένα καθαρό αναλώσιμο 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**
 - Σημάνετε τα επιστρωμένα σωληνάρια εις διπλούν για κάθε βαθμονομητή, δείγμα, υλικό ελέγχου. Για τον προσδιορισμό των συνολικών μετρήσεων, σημάνετε 2 φυσιολογικά σωληνάρια.
 - Ομογενοποιήστε βαθμονομητές υλικά ελέγχου και δείγματα και διανείμτε 200 µl από έκαστο στα αντίστοιχα σωληνάρια.
 - Προσθέστε 50 µl αντι-CT-¹²⁵I (ιχνηθέτη) σε όλα τα σωληνάρια, καθώς και στα μη επιστρωμένα σωληνάρια για τις συνολικές μετρήσεις.
 - Ανακινήστε απαλά με το χέρι τη βάση στήριξης των σωληναρίων.
 - Επώαστε για 18 ± 1 ώρες στους 2-8°C.
 - 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

1. Υπολογίστε τη μέση τιμή των διπλών προσδιορισμών.
2. 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.
3. 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 παό 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

- E. Φαινόμενο αγκίστρου (hook)
- Δείγμα ορού με συγκέντρωση καλσιτονίνης 230.000 pg/ml δίνει σήμα πάνω από τη συγκέντρωση του υψηλότερου βαθμονομητή.

XIV. 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 δυνατό 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 κατεψυγμένα 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.

XV. ΔΙΑΣΤΗΜΑΤΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Φυσιολογικές τιμές

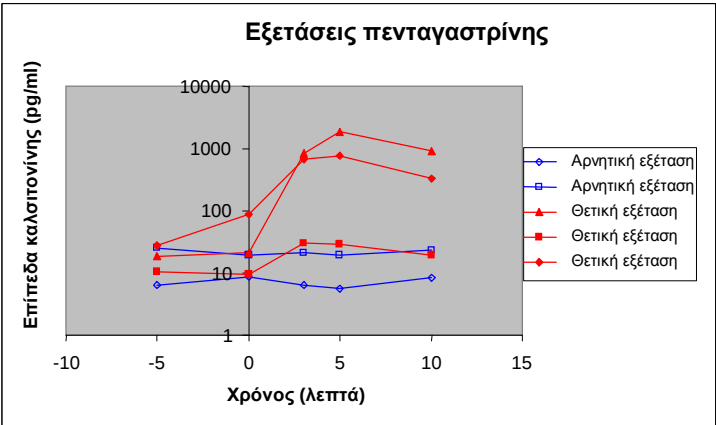
Οι τιμές αυτές παρέχονται μόνον ως οδηγός. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να καθιερώσει το δικό του πεδίο φυσιολογικών τιμών.

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:



XVI. 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 Χ (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 διαφόρων ραδιοϊσότοπων. Τυχόν διαρροές ραδιενεργών υγρών πρέπει να καθαρίζονται αμέσως σύμφωνα με τις διαδικασίες ασφάλειας 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 ασφάλειας 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 περί ασφάλειας. 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 δυνητικώς μολυσματικά. Αποφεύγετε οποιαδήποτε επαφή του δέρματος με αντιδραστήρια (χρησιμοποιείται αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό). Το αζίδιο στο kit αυτό ενδέχεται να αντιδράσει με μόλυβδο 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 συσσωρεύσης 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.

XVII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. GRAZE K., SPILER I.J., TASHUAN A.H., MELVIN K.E.W., CERVISKINNER 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.

XVIII. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ

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

Αρ. καταλόγου DIASource: KIP0429	Αριθμός P.I.: 1700541/el	Αρ. αναθεώρησης: 091110/1
-------------------------------------	-----------------------------	------------------------------

ημερομηνία αναθεώρησης : 2009-11-10

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 de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgien.

För teknisk hjälp eller information om beställning, kontakta:

Tel : +32 (0)67 88.99.99

Fax : +32 (0)67 88.99.96

III. KLINISK BAKGRUND

Kalcitonin (KT) är ett hormon bestående av 32 aminosyrapeptider, vilka utsöndras av sköldkörteln's 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			
<table border="1"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> Anti-CT- ¹²⁵ I (monoklonala antikroppar) i TRIS buffert med bovin serum albumin, azide (<0.1%) och inert röd färg	Ab	¹²⁵ I	1 ampull 5,5 ml 720 kBq	röd	Färdig att användas	
Ab	¹²⁵ I					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Kalibratorer 0-5 i calcitoninfritt humant serum med gentamycin och tymol (se exakta värden på ampullernas etiketter)	CAL	N	6 ampuller frystorkat	gul	Tillsätt 1 ml destillerat vatten	
CAL	N					
<table border="1"><tr><td>SERUM</td></tr></table> KT-fritt humant serum (att användas för utspädning av proverna) med gentamycin och tymol	SERUM	1 ampull frystorkat	svart	Tillsätt destillerat vatten (se mängd på etiketten)		
SERUM						
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>70x</td></tr></table> Tvättlösning (TRIS-HCL)	WASH	SOLN	70x	1 ampull 10 ml	brun	Späd ut 70x med destillerat vatten (använd magnetomrörare)
WASH	SOLN	70x				
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Kontrollerna 1 och 2 i humant serum med gentamycin och tymol	CONTROL	N	2 ampuller frystorkat	silver	Tillsätt 1 ml destillerat vatten	
CONTROL	N					

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:

- Destillerat vatten
- Pipetter för dosering av: 50 µl, 200 µl och 1 ml (användning av exakta pipetter med engångs plastspetsar rekommenderas)
- Vortex mixer
- Magnetomrörare
- 5 ml automatspruta (typ Cornwall) för sköljning
- Vattensug eller liknande
- Gammaräknare, som mäter ¹²⁵I, (minimum utbytte 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 arbetstvättlösning genom att tillsätta 69 delar destillerat vatten till en del tvättlösning (70x). Använd en magnetomrörare för blandning. Släng oanvänd arbetstvättlösning vid dagens slut.

VIII. FÖRVARING AV REAGENSER OCH MÄRKNING AV UTGÅNGSDATUM

- Oöppnade kitkomponenter är stabila till och med utgångsdatum, som märkts ut på etiketten, om de har förvarats i en temperaturer 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. Högpipetionspipetter eller automatpipetter ökar noggrannheten. Håll inkubationstiderna. Gör en ny kalibreringskurva för varje körning, använd inte data från tidigare körningar.

B. Procedur

- Sätt dubbla etiketter på de coatade provrören för varje kalibrator, prov och kontroll. Sätt etiketter på 2 ocoatade provrör för att bestämma den totala mängden.
- Blanda/mixa kalibratorer, kontroller och prover, och fördela 200 µl av var och en i respektive provrör.
- Tillsätt 50 µl anti-CT-¹²⁵I (tracer) i alla provrör, även i de ocoatade provrören för den totala mängden.
- Skaka provrörsstället försiktigt för hand.
- Inkubera 18 ± 1 timme vid 2-8°C.
- Sug upp vätskan i de coatade provrören. Försäkra dig om att du har avlägsnat all vätska, kvarblivna droppar ökar bakgrundsstrålning.
- 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.
- Mät provrören i en gammaräknare under 60 sekunder.

XI. UTRÄKNING AV RESULTATEN

- Räkna ut medeltalet av dubbelproverna.
- 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.
- 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 standard avvikelser 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 kalcitoninkoncentration på 230.000 pg/ml ger en signal som överstiger den högsta kalibreringskoncentrationen.

XIV. 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.

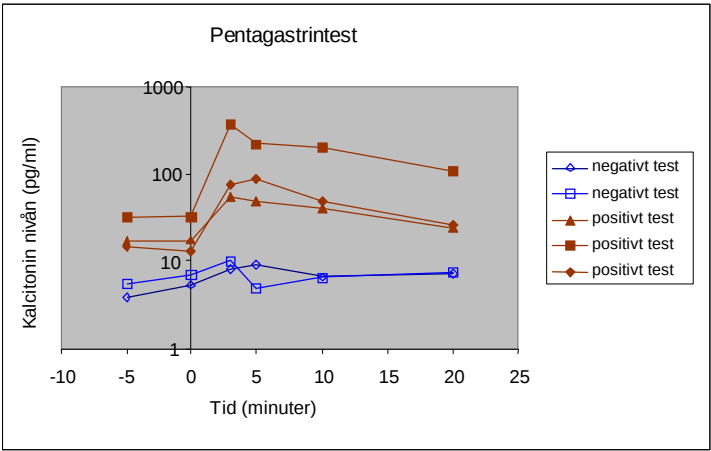
- Om det är önskvärt kan varje laboratorium göra sina egna kontrollprover, som bör hållas frusna i portioner. Frys och tina inte upp mer än en gång.
- Kriterier för godkännande av skillnaderna mellan dubbelvärdena för proverna bör stödja sig på god laboratoriepraxis.

XV. 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:



XVI. 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. Komponenter 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.

XVII. REFERENSER

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.

XVIII. PROTOKOLLSAMMANDRAG

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

DIAsource Katalog Nr: KIP0429	P.I. Nummer: 1700541/sv	Revisionsnr: 091110/1
----------------------------------	----------------------------	--------------------------

Utfärdat : 2009-11-10

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 de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgia.

Dział pomocy technicznej oraz informacje dotyczące zamówień:

Tel: +32 (0)67 88.99.99

Fax: +32 (0)67 88.99.96

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 epitom ludzkiej kalcytoniny. Przechwycone przeciwciało jest przyłączone do dolnej wewnętrznej powierzchni próbówki plastikowej. Kalibratory i próbki są dozowane do próbek i wiążą się z unieruchomionym przeciwciałem. Przeciwciało sygnałowe (oznakowane radiologicznie) jest dodawane natychmiast i po inkubacji, która umożliwia przeprowadzenie reakcji immunologicznej, następnie próbówki są opróżniane i przepłukiwane w celu usunięcia nadmiaru niezwiązanego przeciwciała. Związany z próbkami poziom radioaktywności jest wprost proporcjonalny do stężenia antygenu początkowego w materiale kalibracyjnym lub w próbce.

V. DOSTARCZONE ODCZYNNIKI

Odczynniki	Ilość	Kolor	Rekonstytucja
Próbówki opłaszczone przeciwciałami anti-CT (przeciwciała monoklonalne	2 x 48	niebieski	Gotowe do zastosowania.
Ab^{125I} Przeciwciała monoklonalne anti-CT-^{125I} w buforze TRIS z albuminą z surowicy bydlęcej, azydkiem (<0.1%) i obojętnym czerwonym barwnikiem	1 fiolka 5,5 ml 720 kBq	czerwony	Gotowe do zastosowania.
CALN Kalibratory 0-5 w surowicy pochodzenia ludzkiego wolnej od kalcytoniny z gentamycyną i tymolem (dokładne wartości na etykietach fiolek)	6 fiolek liofil.	żółty	Dodać 1 ml wody destylowanej
SERUM Surowica pochodzenia ludzkiego wolna od CT (do zastosowania w rozcieńczaniu próbek) z gentamycyną i tymolem	1 fiolka liofil.	czarny	Dodać wody destylowanej (objętość podana na etykietcie)
WASHSOLNCONC Roztwór płuczący (TRIS-HCl)	1 fiolka 10 ml	brązowy	Rozcieńczyć 70x wodą destylowaną (wykorzystać mieszadło magnetyczne).
CONTROLN Kontrolne 1 i 2 w surowicy pochodzenia ludzkiego z gentamycyną i tymolem	2 fiolek liofil.	srebrny	Dodać 1 ml wody destylowanej

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 etykietcie).
- 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 rekonstytucją wszystkie składniki zestawu zachowują trwałość do daty ważności przedstawionej na etykietcie, jeżeli są przechowywane w temperaturze od 2 do 8°C.
- Po rekonstytucji 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 powtórным 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 powtórnych oznaczeń 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 potrząsnąć 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 wykresić c.p.m. (rzędna) dla każdego kalibratora wobec odpowiadającego stężenia CT (odcięta) oraz wykresić 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 odchyłeń 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 łososiowa
- PDN 21
- Prokalcitonina N-końcowa

C. Precyzja

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. zmierzone (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. zmierzone (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 ze stężeniem kalcitoniny na poziomie 230 000 pg/ml daje sygnał przekraczający najwyższe stężenie kalibratora.

XIV. WEWNĘTRZNA KONTROLA JAKOŚCI

- Jeżeli wyniki uzyskane dla kontroli 1 i 2 nie znajdują się w zakresie określonym na etykiecie fiolki, 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.

XV. ZAKRESY REFERENCYJNE

Wartości prawidłowe

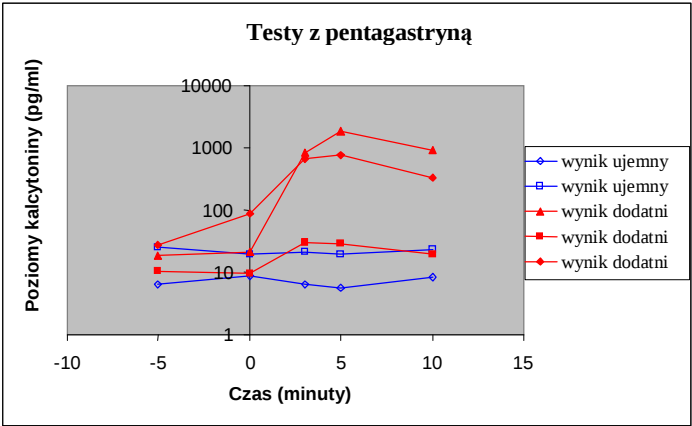
Wartości są przedstawione wyłącznie w celach orientacyjnych, każde laboratorium powinno opracować własne wartości referencyjne.

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:



XVI. 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 zapewni 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.

XVII. BIBLIOGRAFIA

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.

XVIII. PODSUMOWANIE PROTOKOŁU

	CALKOWI TA LICZBA ZLICZEŃ µl	KALIBRATORY µl	PRÓBK(A)I µl
Kalibratory (0-5)	-	200	-
Próbki	-	-	200
Znacznik izotopowy	50	50	50
Inkubacja	18 ± 1 godzin w temperaturze od 2 do 8°C		
Rozdzielenie	-	aspiracja	
Roztwór płuczący	-	2,0 ml	
Rozdzielenie	-	aspiracja	
Roztwór płuczący	-	2,0 ml	
Rozdzielenie	-	aspiracja	
Zliczanie	Zliczanie próbek przez 60 sekund		

Nr katalogowy DIAsource KIP0429	Numer P.I. 1700541/pl	Nr aktualizacji : 091110/1
------------------------------------	--------------------------	-------------------------------

Data wydania : 2009-11-10



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 De l'Industrie 8 B-1400 Nivelles, Belgium.

За техническа помощ или поръчка:
Тел.: +32 (0)67 88.99.99 Факс: +32 (0)67 88.99.96

III. КЛИНИЧЕН ПРЕГЛЕД

Калцитонинът (СТ) представлява 32 аминокислотен пептиден хормон, секретиран 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 молекулно 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 (IIb).

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 отстранят 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
Ab ¹²⁵I Анти-СТ-¹²⁵I (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
CAL N Калибратори 0-5 в човешки серум без съдържание на калцитонин с гентамицин и тимол (виж точните стойности върху етикетите на флаконите)	6 флакона Леофилизира ни	жълт	Добавете 1 ml дестилирана вода
SERUM 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)
WASH SOLN CONC Измиващ разтвор (TRIS-HCl)	1 флакон 10 ml	кафяв	Разредете 70x с дестилирана вода (използвайте магнитен сепаратор)
CONTROL N 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 pg 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:

- Дестилирана вода
- Пипети от: 50 µl, 200 µl и 1 ml (препоръчва се използването на прецизни пипети с накрайници за еднократна употреба).
- Завихрящ смесител
- Магнитен сепаратор
- 5 ml автоматична спринцовка (тип Cornwall) за измиване
- Аспирационна система (по избор).
- 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.
- Прясно 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 раклащане или въртеливо 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

- Означете две по две покритите епруветки за всеки калибратор, контрола и проба. За определяне на общия брой импулси, обозначете 2 нормални епруветки.
- Разклатете за кратко време калибраторите, контролите и пробите и разпределете по 200 µl от всяко в съответните епруветки.
- Разпределете 50 µl от анти-СТ-¹²⁵I трейсер във всяка епруветка, включително и в епруветките без покритие за общия брой импулси.
- Разтърсете нежно с ръка стойката с епруветките, за да освободите някое остатъчно въздушно мехурче.
- Инкубирайте за 18 ± 1 часа при 2-8°C.
- 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.
- 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 яната 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.
- Отчетете епруветките в гама брояч за 60 секунди.

XI. ИЗЧИСЛЯВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

- Изчислете средното аритметично на резултатите, получени от две по две епруветките.
- 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.
- Прочетете концентрациите за всяка контрола и проба чрез интерполиране върху калибрационната крива.
- 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.

СТ-US.-IRMA		срм	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: Коефициент 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

Серумна проба с концентрация на калцитонин 230.000 pg/ml дава сигнал над концентрацията на най-високия калибратор.

XIV. 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.

XV. РЕФЕРЕНТНИ ИНТЕРВАЛИ

Нормални стойности

Стойностите, показани по-долу, са предоставени само за напътствие; всяка лаборатория трябва да установи свои собствен нормален обхват на стойности.

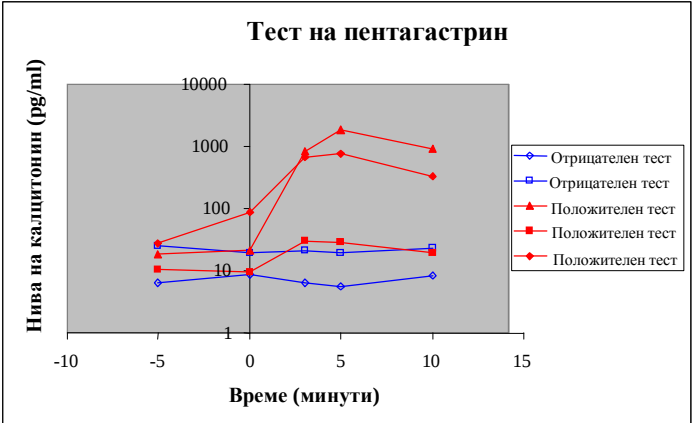
Тези стойности имат само указателен характер, всяка лаборатория трябва да определи свой собствен нормален обхват на стойностите.

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:



XVI. ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Безопасност

Само за *in vitro* диагностика.
Този набор съдържа ¹²⁵I (полуживот: 60 дни), емитиращ 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; покупката, 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 радионуклиди.
Всякакви радиоактивни пръски трябва да се почистват незабавно в съответствие с процедурите за радиационна безопасност. Радиоактивните отпадъци трябва да се изхвърлят, 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, серумите 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 третират 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 пилептирайте 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.

XVII. ОБОБЩЕНИЕ НА ПРОТОКОЛА

	ОБЩА АКТИВНОСТ µl	КАЛИБРАТОРИ µl	ПРОБА (II) КОНТРОЛИ µl
Калибратори (0-5) Проби, контроли Трейсър	- - 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: 091110/1
-------------------------------------	---------------------------	-------------------------------

Дата на ревизия: 2009-11-10

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 de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

Gyakorlati jellegű vagy rendeléssel kapcsolatos kérdésekkel hívja a következő számot :

Tel : +32 (0)67 88.99.99

Fax : +32 (0)67 88.99.96

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 foszfátkoncentrációját. 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 termelés).

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 építőpajaira 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 REAGENSKÉSZLET TARTALMA

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

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:

- Desztillált víz
- 50 µl, 200 µl és 1 ml bemérésére alkalmas pipetták. (ajánlott pontos pipetták és eldobható műanyag pipettahegyek használata)
- Vortex
- Mágneses keverő
- 5 ml automata fecskendő (Cornwall) a mosáshoz
- Vízlégszivattyú (választható).
- 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 vízbenl.
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 reagensok 2-8°C-on tárolva a címkén feltüntetett időpontig eltarthatók.
- A kalibrátorokat, kontrollokat, és a CT-mentes savót a feloldás és az első használat után azonnal fagyassza le, ezután -20°C-on 3 hónapig felhasználhatók. 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 tracert az eredeti, jól lezárt ampullában 2-8°C-on tárolja, akkor a címkén feltüntetett időpontig eltartható.
- A reagensok fizikai tulajdonságainak megváltozása valószínűleg azt jelzi, hogy megromlottak.

IX. MINTAVÉTEL ÉS ELŐKÉSZÍTÉS

A vizsgálatához 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 olvassza fel.
- Hogy a vizsgálat ismételhető 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 lejáratí idejükön túl. Ne keverjen össze eltérő gyártási számú reagenskészletekből származó anyagokat. Használat előtt várja meg, amíg a reagensok szobahőmérsékletre melegednek. Óvatos mozzgatással vagy keveréssel alaposan homogenizálja a reagensket. Minden reagens és minta beméréséhez használjon tiszta eldobható pipettahegyet, hogy elkerülje az anyagok beszenneyződését. Nagypontosságú pipetták, vagy automata pipettázó készülék használata javítja a vizsgálat pontosságát. Tartsa be a megadott inkubációs időket. Minden vizsgálatához készítsen új kalibrációs görbét, ne használja korábbi mérések adatait.

B. A vizsgálat menete

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

XI. EREDMÉNYEK KISZÁMÍTÁSA

- Számolja ki a párhuzamos mérések átlagát.
- A fél-logaritmikus vagy a lineáris diagramon ábrázoljon minden egyes kalibrátort. Az x tengelyen a calcitonin (CT) koncetráció, az y tengelyen a cpm szerepel. Rajzolja meg a kalibrációs görbét, kihagyva azokat a pontokat, amelyek nagyon eltérnek a görbe vonalától.
- Interpolációval olvassa le a kalibrációs görbéről a kontrollok és a minták calcitonin-koncentráció értékeit. Az adatok számítógépes értékelése egyszerűbb. Ha automatikus 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. Specifititás
- 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 230.000 pg/ml kalcitonin-koncentrációjú minta a vizsgálat során a legnagyobb kalibrátornál nagyobb értéket ad.

XIV. 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 szétoztva, lefagyasztva kell tárolni. Kerülje a minták egymél többszöri lefagyasztását és felolvasztását.
- A párhuzamos vizsgálatok eredményei közötti eltérés elfogadható mértékét a GLP (Good Laboratory Practises) alapján kell meghatározni.

XV. REFERENCIA-TARTOMÁNY

Normál értékek

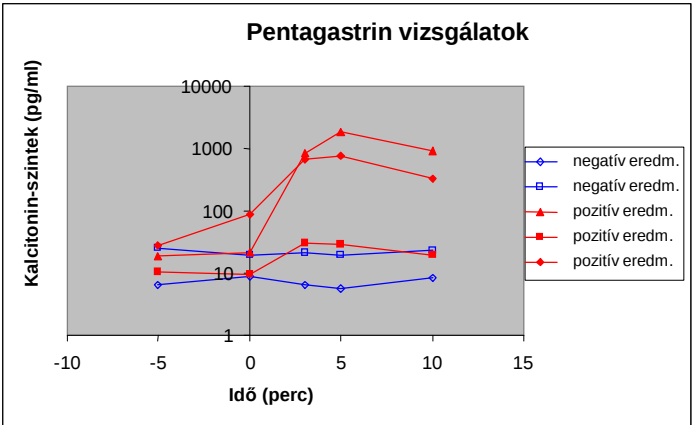
Az alábbi értékek csak irányadó jellegűek, minden laboratóriumnak meg kell határoznia saját referenciatartományát.

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:



XVI. 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 embereken 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 szennyeződhetnek, 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 reagenzeit 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 hepatitist, AIDS-et vagy más fertőző betegséget. Ezért minden ilyen reagent 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 reagent 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 csővezetékek anyagával. A csövek mosásakor nagy mennyiségű vízzel együtt öntse ki ezeket az anyagokat, hogy megelőzze az azid felgyülemlesztését.

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

XVII. IRODALOM

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.

XVIII. 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 : 091110/1
--------------------------------------	---------------------------	--------------------------

Frissítés időpontja : 2009-11-10

	<u>Used symbols</u>	<u>Symboles utilisés</u>
	Consult instructions for use	Consulter les instructions d'utilisation
	Storage temperature	Température de conservation
	Use by	Utiliser jusque
	Batch code	Numéro de lot
	Catalogue number	Référence de catalogue
	Control	Contrôle
	In vitro diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Manufacturer	Fabricant
	Contains sufficient for <n> tests	Contenu suffisant pour <n> tests
	Wash solution concentrated	Solution de lavage concentrée
	Zero calibrator	Calibrateur zéro
	Calibrator #	Calibrateur #
	Control #	Contrôle #
	Tracer	Traceur
	Tracer	Traceur
	Tracer concentrated	Traceur concentré
	Tracer concentrated	Traceur concentré
	Tubes	Tubes
	Incubation buffer	Tampon d'incubation
	Acetonitrile	Acétonitrile
	Serum	Sérum
	Specimen diluent	Diluant du spécimen
	Dilution buffer	Tampon de dilution
	Antiserum	Antisérum
	Immunoabsorbent	Immunoabsorbant
	Calibrator diluent	Diluant de calibrateur
	Reconstitution solution	Solution de reconstitution
	Polyethylene glycol	Glycol Polyéthylène
	Extraction solution	Solution d'extraction
	Elution solution	Solution d'élution
	Bond Elut Silica cartridges	Cartouches Bond Elut Silica
	Pre-treatment solution	Solution de pré-traitement
	Neutralization solution	Solution de neutralisation
	Tracer buffer	Tampon traceur
	Microtiterplate	Microplaque de titration
	HRP Conjugate	HRP Conjugué
	HRP Conjugate	HRP Conjugué
	HRP Conjugate concentrate	HRP Conjugué concentré
	HRP Conjugate concentrate	HRP Conjugué concentré
	Conjugate buffer	Tampon conjugué
	Chromogenic TMB concentrate	Chromogène TMB concentré
	Chromogenic TMB solution	Solution chromogène TMB
	Substrate buffer	Tampon substrat
	Stop solution	Solution d'arrêt
	Incubation serum	Sérum d'incubation
	Buffer	Tampon
	AP Conjugate	AP Conjugué
	Substrate PNPP	Tampon PNPP
	Biotin conjugate concentrate	Biotine conjugué concentré
	Avidine HRP concentrate	Avidine HRP concentré
	Assay buffer	Tampon de test
	Biotin conjugate	Biotine conjugué
	Specific Antibody	Anticorps spécifique
	Streptavidin HRP concentrate	Concentré streptavidine HRP
	Non-specific binding	Liant non spécifique
	2nd Antibody	Second anticorps
	Acidification Buffer	Tampon d'acidification

	<u>Gebruikte symbolen</u>	<u>Gebrauchte Symbolen</u>
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Gebrauchsanweisung beachten
	Bewaartemperatuur	Lagern bei
	Houdbaar tot	Verwendbar bis
	Lotnummer	Chargenbezeichnung
	Catalogusnummer	Bestellnummer
	Controle	Kontrolle
	Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek	In Vitro Diagnostikum
	Fabrikant	Hersteller
	Inhoud voldoende voor <n> testen	Ausreichend für <n> Ansätze
	Wasoplossing, geconcentreerd	Waschlösung-Konzentrat
	Nulkalibrator	Null kalibrator
	Kalibrator #	Kalibrator #
	Controle #	Kontrolle #
	Tracer	Tracer
	Tracer	Tracer
	Tracer geconcentreerd	Tracer Konzentrat
	Tracer geconcentreerd	Tracer Konzentrat
	Buisjes	Röhrchen
	Incubatiebuffer	Inkubationspuffer
	Acetonitrile	Azetonitril
	Serum	Humanserum
	Specimen diluent	Probenverdünner
	Verdunningsbuffer	Verdünnungspuffer
	Antiserum	Antiserum
	Immunoabsorbent	Immunadsorbens
	Kalibratorverdunner	Kalibratorverdünnung
	Reconstitutieoplossing	Rekonstitutionslösung
	Polyethyleen glycol	Polyethylenglykol
	Extractieoplossing	Extraktionslösung
	Elutieoplossing	Eluierungslösung
	Bond Elut Silica kolom	Bond Elut Silikakartuschen
	Pre-behandelingsoplossing	Vorbehandlungslösung
	Neutralisatieoplossing	Neutralisierungslösung
	Tracerbuffer	Tracer-Puffer
	Microtiterplaat	Mikrotiterplatte
	HRP Conjuaat	HRP Konjugat
	HRP Conjuaat	HRP Konjugat
	HRP Conjuaat geconcentreerd	HRP Konjugat Konzentrat
	HRP Conjuaat geconcentreerd	HRP Konjugat Konzentrat
	Conjuaat buffer	Konjugatpuffer
	Chromogene TMB geconcentreerd	Chromogenes TMB Konzentrat
	Chromogene Oplossing TMB	Farblösung TMB
	Substraatbuffer	Substratpuffer
	Stopoplossing	Stopplösung
	Incubatieserum	Inkubationsserum
	Buffer	Puffer
	AP Conjuaat	AP Konjugat
	Substraat PNPP	Substrat PNPP
	Geconcentreerd Biotine conjuaat	Biotin-Konjugat-Konzentrat
	Geconcentreerd Avidine-HRP conjuaat	Avidin-HRP-Konzentrat
	Assay buffer	Assaypuffer
	Biotine conjuaat	Biotin-Konjugat
	Specifiek antilichaam	Spezifischer Antikörper
	Streptavidine-HRP concentraat	HRP Streptavidinkonzentrat
	Aspecifieke binding	Unspezifische Bindung
	2de antilichaam	Sekundärer Antikörper
	Verzuringbuffer	Ansäuerungspuffer

	<u>Simboli utilizzati</u>	<u>Símbolos utilizados</u>
	Consultare le istruzioni per l'uso	Consultar las instrucciones de uso
	Limitazioni di temperatura	Limitación de temperatura
	Utilizzare entro	Fecha de caducidad
	Numero di lotto	Código de lote
	Numero di catalogo	Número de catálogo
	Controllo	Control
	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Fabbricante	Fabricante
	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Contenido suficiente para <n> ensayos
	Tampone di lavaggio concentrato	Solución de lavado concentrada
	Calibratore zero	Calibrador cero
	Standard #	Calibrador #
	Controllo #	Control #
	Marcato	Trazador
	Marcato	Trazador
	Marcato concentrato	Trazador concentrada
	Marcato concentrato	Trazador concentrada
	Provette	Tubos
	Tampone incubazione	Tampón de incubación
	Acetonitrile	Acetonitrilo
	Siero	Suero
	Diluente campione	Diluyente de Muestra
	Tampone diluizione	Tampón de dilución
	Antisiero	Antisuero
	Immunoassorbente	Inmunoadsorbente
	Diluente calibratore	Diluyente de calibrador
	Soluzione di ricostituzione	Solución de Reconstitución
	Polietilenglicole	Glicol Polietileno
	Soluzione di estrazione	Solución de extracción
	Soluzione di eluizione	Solución de elución
	Cartucce di silice bond elut	Cartuchos Bond Elut Silica
	Soluzione di pretrattamento	Solución de Pre-tratamiento
	Soluzione di neutralizzazione	Solución de Neutralización
	Tracer Buffer	Tampón de trazador
	Piastra di microtitolazione	Placa de microvaloración
	HRP Coniugato	HRP Conjugado
	HRP Coniugato	HRP Conjugado
	HRP Coniugato concentrato	HRP Conjugado concentrada
	HRP Coniugato concentrato	HRP Conjugado concentrada
	Buffer coniugato	Tampón de Conjugado
	Cromogena TMB concentrato	Cromógena TMB concentrada
	Soluzione cromogena TMB	Solución Cromógena TMB
	Tampone substrato	Tampón de sustrato
	Soluzione di arresto	Solución de Parada
	Incubazione con siero	Suero de Incubación
	Buffer	Tampón
	AP Coniugato	AP Conjugado
	Substrato PNPP	Sustrato PNPP
	Concentrato coniugato con biotina	Concentrado de conjugado de biotina
	Concentrato avidina HRP	Concentrado avidina-HRP
	Soluzione tampone per test	Tampón de ensayo
	Coniugato con biotina	Conjugado de biotina
	Anticorpo Specifico	Anticuerpo específico
	Streptavidina-HRP concentrata	Estreptavidina-HRP Concentrado
	Legame non-specifico	Unión no específica
	2° Anticorpo	Segundo anticuerpo
	Tampone Acidificante	Tampón de Acidificación

	<u>Símbolos utilizados</u>	<u>Använda symboler</u>
	Consulte instruções de utilização	Läs instruktionerna före användning
	Temperatura de conservação	Förvaringstemperatur
	Utilizar antes de	Används av
	Código de lote	Lotnummer
	Número de catálogo	Katalognummer
	Controlo	Kontroll
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro	In vitro diagnostiskt kit
	Fabricante	Tillverkare
	Conteúdo suficiente para <n> testes	Innehållet räcker till <n> prover
	Solução de lavagem concentrada	Tvättlösning, koncentrerad
	Calibrador zero	Nollkalibrerare
	Calibrador #	Kalibrator #
	Controlo #	Kontroll #
	Marcador	Radioisotop, antigen
	Marcador	Radioisotop, antikropp
	Marcador concentrada	Radioisotop, antigen koncentrerad
	Marcador concentrada	Radioisotop, antikropp koncentrerad
	Tubos	Rör
	Tampão de incubação	Inkuberingsbuffert
	Acetonitrilo	Acetonitril
	Soro	Serum
	Diluidor de espécimes	Spädningsbuffert för prover
	Tampão de diluição	Spädningsbuffert
	Anti-soro	Antiserum
	Imunoadsorvente	Immunoadsorberare
	Diluyente do calibrador	Kalibratordiluent
	Solução de Reconstituição	Rekonstitutionslösning
	Polietileno-glicol	Polyetylglykol
	Solução de Extração	Extraktionslösning
	Solução de Eluição	Elueringslösning
	Cartuchos de sílica Bond Elut	Silikonpatroner för elueringsbindning
	Solução de pré-tratamento	Förbehandlingslösning
	Solução de neutralização	Neutraliseringslösning
	Tampão Marcador	Tracerbuffert
	Placa de micro titulação	Microtiterplatta
	HRP Conjugação	HRP-konjugat
	HRP Conjugação	HRP-konjugat
	HRP Conjugação concentrada	HRP-konjugat-koncentrat
	HRP Conjugação concentrada	HRP-konjugat-koncentrat
	Conjuge o tampão	Konjugatbuffert
	Cromogénica TMB concentrada	Kromogeniskt TMB-koncentrat
	Solução Cromogénica TMB	Kromogenisk TMB-lösning
	Tampão de substrato	Substratbuffert
	Solução de Paragem	Stoplösning
	Soro de incubação	Inkubationsserum
	Tampão	Buffert
	AP Conjugação	AP-konjugat
	Substrato PNPP	Substrat-PNPP
	Concentrado conjugado de biotina	Biotinkonjugat koncentrat
	Concentrado HRP de avidina	Avidin HRP-koncentrat
	Tampão de ensaio	Provbuffert
	Conjugado de biotina	Biotinkonjugat
	Anticorpo específico	-
	Estreptavidina HRP concentrado	-
	Ligações não específicas	-
	Anticorpo secundário	-
	Tampão de acidificação	-

	<u>Επεξήγηση συμβόλων</u>	<u>Anvendte symboler</u>
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης	Læs brugsvejledningen
	Θερμοκρασία αποθήκευσης	Opbevaringstemperatur
	Ημερομηνία λήξης	Anvend inden
	Αριθμός παρτίδας	Batchkode
	Αριθμός καταλόγου	Katalognummer
	Πρότυπο ελέγχου	Kontrol
	In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnosticering
	Κατασκευαστής	Fabrikant
	Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις	Indeholder nok til <n> test
	Συμπυκνωμένο διάλυμα έκπλυσης	Koncentreret vaskeopløsning
	Μηδενικός βαθμονομητής	Nul-kalibrator
	Βαθμονομητής #	Kalibrator nr.
	Ορός ελέγχου #	Kontrol nr.
	Ιχνηθέτης	Markør
	Ιχνηθέτης	Markør
	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης	Koncentreret markør
	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης	Koncentreret markør
	Σοληνάρια	Tuber
	Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης	Inkubationsbuffer
	Ακετονιτρίλιο	Acetonitril
	Ορός	Serum
	Διάλυμα αραίωσης δειγμάτων	Prøvediluent
	Ρυθμιστικό διάλυμα αραίωσης	Fortyndingsbuffer
	Αντιορός	Antiserum
	Ανοσοπροσροφητικό	Immonoadsorbent
	Αραιωτικό βαθμονομητών	Kalibratordiluent
	Διάλυμα ανασύστασης	Rekonstitueringsopløsning
	Πολυαιθυλενογλυκόλη	Polyetylenglykol
	Διάλυμα εκχύλισης	Ekstraktionsopløsning
	Διάλυμα έκλουσης	Elueringsopløsning
	Φύσιγγες πυριτίου Bond Elut	Patroner med bindingselueringssilica
	Διάλυμα προεπεξεργασίας	Forbehandlingsopløsning
	Διάλυμα εξουδετέρωσης	Neutraliseringsopløsning
	Ρυθμιστικό διάλυμα	Markørbuffer
	Πλάκα μικροτιτλοδότησης	Mikrotiterplade
	HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat
	HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat
	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat-koncentreret
	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat-koncentreret
	Ρυθμιστικό διάλυμα συζεύγματος	Konjugatbuffer
	Χρωμογόνος TMB	Kromogen TMB-koncentreret
	Διάλυμα χρωμογόνου TMB	Kromogen TMB-opløsning
	Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος	Substratbuffer
	Ανασχετικό αντιδραστήριο	Stopopløsning
	Ορός επώασης	Inkubationsserum
	Ρυθμιστικό διάλυμα	Buffer
	AP Σύζευγμα	AP-konjugat
	PNPP υποστρώματος	Substrat PNPP
	Συμπυκνωμένο αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη	Biotin konjugat koncentrat
	Συμπυκνωμένο διάλυμα αβιδίνης-HRP	Avidin HRP koncentrat
	Ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού	Prøvebuffer
	αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη	Biotin konjugat
	Ειδικό Αντίσωμα	-
	Συμπυκνωμένη στρεπταβιδίνη συνεξευγμένη με HRP	-
	μη-ειδική δέσμευση	-
	2ο Αντίσωμα	-
	Ρυθμιστικό Διάλυμα όξινο	-

	<u>Stosowane symbole</u>	<u>Használt szimbólumok</u>
	Przed zastosowaniem zapoznać się z instrukcją	Olvassa el a használati útmutatót
	Temperatura przechowywania	Tárolási hőmérséklet
	Zużyć przed	Lejáratí idő
	Kod serii	Gyártási kód
	Numer katalogowy	Katalógus szám
	Kontrola	Kontrol
	Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro	In vitro diagnosztikai eszköz
	Producent	Gyártó
	Zawartość wystarczająca do <n> testów	Tartalma <n> teszt elvégzésére elegendő
	Roztwór płuczący stężony	Mosó folyadék koncentrátum
	Kalibrator zerowy	Zero kalibrátor
	Kalibrator nr	Kalibrátor #
	Kontrola nr	Kontrol #
	Znacznik izotopowy	Nyomjelző izotóp
	Znacznik izotopowy	Nyomjelző izotóp
	Znacznik izotopowy stężony	Nyomjelző izotóp koncentrátum
	Znacznik izotopowy stężony	Nyomjelző izotóp koncentrátum
	Probówki	Csővek
	Wymagana inkubacja buforu	Inkubáló puffer
	Acetonitryl	Acetonitril
	Surowica	Szérum
	Rozcieńczalnik próbki	Mintahígító
	Bufor do rozcieńczania	Hígító puffer
	Antysurowica	Antiszérum
	Immunoabsorbent	Immunadszorbens
	Rozcieńczalnik kalibratora	Kalibrátor hígító
	Roztwór do rozcieńczania	Mintaelőkészítő oldat
	Glikol poli(oksy)etylenowy	Polietilén glikol
	Roztwór ekstrakcyjny	Extrakciós oldat
	Roztwór elucyjny	Eluáló oldat
	Kolumny krzemionkowe Bond Elut	Bond Elut Silica szilikagél patronok
	Roztwór do przygotowania wstępnego	Előkezelő oldat
	Roztwór neutralizujący	Semlegesítő oldat
	Bufor znacznika	Nyomjelző izotóp hígító puffer
	mikro płytki	Mikrotiter lemez
	Koniugat peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum
	Koniugat peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum
	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum koncentrátum
	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum koncentrátum
	Bufor do koniugacji	Konjugátum puffer
	Koncentrat chromogenu TMB (czterometylobenzydyny)	Kromogén TMB koncentrátum
	Roztwór chromogenu TMB (czterometylobenzydyny)	Kromogén TMB oldat
	Bufor substratu	Szubsztrát puffer
	Roztwór zatrzymujący reakcję	Stop oldat
	Wymagana inkubacja surowicy	Inkubációs szérum
	Bufor	Puffer
	Koniugat AP (fosfatazy alkalicznej)	AP konjugátum
	p-nitrofenylofosforan substratowy	Szubsztrát PNPP
	Koncentrat koniugatu biotyny	Biotin konjugátum koncentrátum
	Koncentrat peroksydazy chrzanowej z awidyną	Avidin HRP koncentrátum
	Bufor do oznaczania	Vizsgálati puffer
	Koniugatu biotyny	Biotin konjugátum
	Przeciwciało swoiste	Specifikus ellenanyag
	Koncentrat streptawidyny HRP	Sztreptawidin HRP koncentrátum
	Wiązanie nieswoiste	Nem-specifikus kötődés
	Drugie przeciwciało	Másodlagos ellenanyag
	Bufor zakwaszający	Savas puffer

	<u>Използвани символи</u>
	Вижте инструкцията за работа
	Температура на съхранение
	Използвайте с
LOT	Партиден код
REF	Каталожен номер
CONTROL	Контрол
IVD	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
	Микротитърна 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 антитяло
SAV HRP CONC	стрептавидин HRP концентрат
NSB	не специфично свързване
2nd Ab	второ антитяло
ACID BUF	киселинизиращ буфер