



IVD

CE

CA 50 IRMA

OCFM07-CA50

Version : 220524

History

Summary of change:

Previous Version:	Current Version:
/	220524
	First creation



en

Read entire protocol before use.

CA 50 IRMA

I. INTENDED USE

Immunoradiometric assay kit for the in vitro quantitative measurement of CA 50 antigen in human serum.

The kit is intended for professional use.

II. GENERAL INFORMATION

- A. Proprietary name : DIAsource CA 50 IRMA Kit
- B. Catalog number : OCFM07-CA50 : 96 tests
- C. Manufactured by : DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

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

III. CLINICAL BACKGROUND

Tumor cells express substances in the cell membrane which are not usually produced in healthy cell membranes. The determination of these tumor-associated structures is a valuable tool in the diagnosis of malignant disorders. Using the hybridoma technique of Köhler and Milstein, specific immunological reagents (monoclonal antibodies, MAB) can be obtained which recognize tumor-associated antigens. A monoclonal antibody of this type, C-50 MAB, was obtained after immunization using a colorectal adenocarcinoma cell line, Colo 205. The C-50 MAB recognizes two different carbohydrate chains, the sialylated Lewis-a and the hitherto unknown sialylated lactotetraose. Structures containing CA-50 are mainly found in gastrointestinal cancers (e.g. pancreatic, stomach, hepatic and colorectal cancers) but also sometimes in other malignant growths (endometrial cancers). The CA-50 antigens occur in the cell membrane in a lipid-bound form (as ganglioside) and in a form bound to a high molecular weight protein (as glycoprotein). The CA-50 antigens are released by the tumors into the blood stream where they can be specifically detected by means of immunological techniques based on C-50 MAB.

CA-50 is normally detectable only in low concentrations in the serum of healthy men and women. A slight elevation in CA-50 concentrations can sometimes be observed in patients with benign disorders.

Pathologically raised serum CA-50 levels are encountered in the presence of CA-50-producing tumors, e.g. tumors of the pancreas, gastrointestinal tract, endometrium and bladder.

If a malignant disorder is suspected and elevated CA-50 levels are observed, additional tests are recommended. The main indication for determination of CA-50 is the follow-up of tumor patients, i.e. the monitoring of treatment efficacy and the monitoring of the course of the disease over time and determination of its prognosis. Benign disorders can lead to CA-50 values above the normal range; this frequently occurs, for example, in cases of acute and chronic pancreatitis, ulcerative colitis, Crohn's disease, cirrhosis of the liver and hepatitis.

IV. PRINCIPLES OF THE METHOD

The DIAsource CA 50 IRMA in vitro assay of the CA-50 antigen in human serum (or plasma) using the 2-step "sandwich" test principle. A complex of anti-CA-50 antibodies (monoclonal, mouse) bound to the tube wall, CA-50 in the sample and ^{125}I -labeled anti-CA-50 antibodies (monoclonal, mouse) is formed. After the reaction, the free tracer fraction is removed by aspiration and washing.

The amount of tracer specifically bound to the coated test tubes is measured with a gamma scintillation counter.

Evaluation of results provided by unknown samples is performed by reading off from a standard curve constructed under identical conditions.

V. REAGENTS PROVIDED

Reagents	96 tests Kit	Reconstitution
Tubes coated with anti CA50 (mouse monoclonal antibodies)	2 x 48	Ready for use
Ab ^{125}I Anti-CA 50 ^{125}I (mouse monoclonal antibodies) in buffer with non-specific mouse immunoglobulins, bovine serum albumin, sodium azide, mouse and red dye .	1 vial 22 ml 344 kBq	Ready for use
CAL 0 Zero calibrator in buffer and sodium azide	1 vial 0.5 ml liquid	Ready for use
CAL N Calibrators 1-6:human CA 50 antigen in human serum, buffer and sodium azide. (see exact value on vial labels)	6 vials 0.5 ml liquid	Ready for use
CONTROL N Control: human CA 50 antigen in human serum and sodium azide. (see exact value on vial label)	2 vials 0.5 ml liquid	Ready for use
BUFFER Incubation buffer with bovine serum albumin, bovine immunoglobulins, blue dye and sodium azide .	1 vial 25 ml liquid	Ready for use
WASH SOLN CONC Wash solution (Phosphate Buffer)	1 vial 50 ml	Dilute 25x with distilled water (use a magnetic stirrer).

VI. SUPPLIES NOT PROVIDED

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

1. Distilled water
2. Precision micropipettes or similar , for delivery of: 50 μl and 200 μl (the use of accurate pipettes with disposable plastic tips is recommended).
3. Disposable plastic tubes
4. Vortex mixer
5. Magnetic stirrer
6. Tubes shaker : circular horizontal (300 rpm)
7. 5 ml automatic syringe (Cornwall type) for washing
8. Aspiration system (optional)
9. Any gamma scintillation counter capable of measuring ^{125}I may be used (minimal yield 70%).

VII. REAGENT PREPARATION

Working Wash solution : Prepare an adequate volume of Working Wash solution by adding 24 volumes of distilled water to 1 volume of Wash Solution (25x). 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, all kit components are stable until the expiry date, indicated on the vial label, if kept at 2 to 8°C.
- 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

The assay is performed directly on serum. If the test is to be carried out within 3 days after the sample is taken, the serum samples can be stored at 2-8°C. If not, they should be divided into aliquots which must be stored frozen (-20°C). Avoid re-freezing a sample after defrosting. After defrosting or removal from the refrigerator, shake the samples well. Dilutions: If high CA-50 levels are suspected, dilutions should be prepared with incubation buffer.

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 (18-25°C) at least 30 minutes prior to use. In order to avoid cross-contamination, use a clean disposable pipette tip for the addition of each reagent and sample. Thoroughly mix all reagents and samples by gentle agitation or swirling. High precision pipettes or automated pipetting equipment will improve the precision. Respect the incubation times. Prepare a calibration curve for each run, do not use data from previous runs.

B. Procedure

1. Label coated tubes in duplicate for each calibrator, sample and control. For determination of total counts, label 2 uncoated disposable plastic tubes.
2. Briefly vortex calibrators, samples, control.
3. Respect the order in which reagents are to be added:
4. Distribute 50 μl of calibrator, controls, or sample to be assayed at the bottom of the tubes prepared for this purpose. Use a new pipette tip for each sample.
5. Distribute 200 μl of buffer in each tube.
6. Shake the tubes on a horizontal agitation system (300 rpm) for 2 hours at a temperature of between 18 and 25°C.
7. Wash the coated tubes as follows:
 - Aspirate the contents of the tubes as completely as possible.
 - Be sure that the plastic tip of the aspirator reaches the bottom of the coated tube in order to remove all the liquid.
 - Add 1.0 mL of Working Wash solution to each tube.
 - Avoid foaming during the addition of the Working Wash solution.
 Repeat this process twice.
8. Add 200 μl of anti-CA 50 ^{125}I to all the tubes.
9. Shake the tubes on a horizontal agitation system for 2 hours at a temperature of between 18 and 25°C.
10. Wash the coated tubes (except total counts) as previously described.
11. After the last washing, let the tubes stand upright for two minutes and aspirate the remaining drop of liquid.
12. Measure the remaining radioactivity bound to the coated tubes with a gamma scintillation counter for 60 seconds.

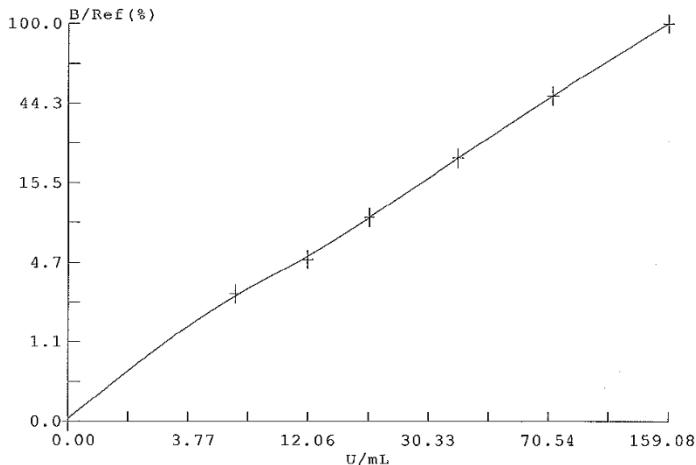
XI. CALCULATION OF RESULTS

1. Calculate the mean of duplicate determinations.
2. Plot the c.p.m. (ordinate) for each calibrator against the corresponding concentration of CA50 (abscissa) and draw a calibration curve through the calibrator points, reject the obvious outliers.
3. Read the concentration for each control and sample by interpolation on the calibration curve.
4. 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 CALIBRATION CURVE

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

CA 50 IRMA		cpm
Calibrator	0.0 U/ml	868
	6.3 U/ml	2267
	12.1 U/ml	3348
	19.6 U/ml	5592
	37.5 U/ml	11899
	72.7 U/ml	25262
	159.1 U/ml	51091
Control	15.3 U/ml	4313
	51.1 U/ml	17064



XIII. PERFORMANCE AND LIMITATIONS

A. Detection limit

The limit of detection is defined as the smallest detectable concentration above 0. It has been assessed as 0.9 U/ml.

B. Interferences

The presence of bilirubin at concentrations of up to 0.5 mg/mL, hemoglobin up to 20 mg/mL and triglycerides up to 25 mg/mL have no effect on the assay results. The immuno-assay is protected against heterophilic antibodies. However, we cannot guarantee that this protection is exhaustive.

C. Precision

INTRA ASSAY				INTER ASSAY			
Serum	Replicate	Concentration (U/ml)	CV (%)	Serum	Replicate	Concentration (U/ml)	CV (%)
A	20	13.1	6.5	C	13	50.9	6.5
B	20	51.0	4.1	D	13	13.0	6.7

CV: Coefficient of variation

D. Accuracy

RECOVERY TEST:

Known quantities of CA-50 were added to human sera. The recovery percentages from the samples ranged from 102 to 120%.

DILUTION TEST:

Samples with high concentrations of CA-50 were diluted. The recovery percentages obtained ranged from 91 to 108%.

E. Specificity

The monoclonal antibodies used in this assay guarantee specific measurement of the CA-50 antigen.

XIV. LIMITATIONS

- Do not extrapolate sample values beyond the last calibrator. Dilute the samples concerned and retest.

- The DIAsource CA-50 kit enables concentrations of 0.2 to 175 U/mL of CA-50 to be measured.

XV. INTERNAL QUALITY CONTROL

- If the results obtained for Control 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 its own pools of control samples, which should be kept frozen in aliquots. Do not freeze-thaw more than twice.
- Acceptance criteria for the difference between the duplicate results of the samples should rely on Good Laboratory Practises

XVI. REFERENCE INTERVALS

The normal range for CA-50 was determined using 57 samples of serum from healthy men and women. Statistical evaluation demonstrated a concentration of 22.9 U/mL for the 90th percentile and of 23.5 U/mL for the 95th percentile.

XVII. PRECAUTIONS AND WARNINGS

Safety

For *in vitro* diagnostic use only.

This kit contains ^{125}I (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 logbook 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 radiation safety procedures. The radioactive waste must be disposed of following the local regulations and guidelines of the authorities holding jurisdiction over the laboratory. Adherence to the basic rules of radiation safety provides adequate protection.

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

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

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

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

XVIII. SUMMARY OF THE PROTOCOL

	TOTAL COUNTS µl	CALIBRATORS µl	SAMPLE(S) CONTROL µl
Calibrators (0-6) Control or Samples Buffer	- - -	50 - 200	- 50 200
Incubation	2 hours at 18-25°C , with continuous shaking (300 rpm)		
Separation Working Wash solution Separation Working Wash solution Separation	- - - - -	Aspirate 1.0 ml Aspirate 1.0 ml Aspirate	
Tracer	200	200	200
Incubation	2 hours at 18-25°C , with continuous shaking (300 rpm)		
Separation Working Wash solution Separation Working Wash solution Separation	- - - - -	Aspirate 1.0 ml Aspirate 1.0 ml Aspirate	
Counting	Count tubes for 60 seconds		

Other translations of this Instruction for Use can be downloaded from our website: <https://www.diasource-diagnostics.com/>

DIAsource Catalogue Nr : OCFM07-CA50	Revision Number : 220524
---	-----------------------------

Revision date: 24/05/2022



fr

Lire l'intégralité du protocole avant utilisation.

CA 50 IRMA

I. UTILISATION PRÉVUE

Trousse de dosage immunoradiométrique pour la mesure quantitative in vitro de l'antigène CA-50 dans le sérum humain.

La trousse est destinée à un usage professionnel.

II. INFORMATIONS GÉNÉRALES

A. Nom de spécialité : Trousse DIAsource CA 50 IRMA

B. Numéro de référence : OCFM07-CA50 : 96 tests

C. Fabriqué par : DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgique.

Pour une assistance technique ou des renseignements sur les commandes, contacter :

Tél. : +32 (0)10 84.99.11 Fax : +32 (0)10 84.99.91

III. CONTEXTE CLINIQUE

Les cellules tumorales indiquent la présence, au niveau de la membrane cellulaire, de substances qui ne sont généralement pas produites dans la membrane de cellules saines. La détermination de ces structures associées aux tumeurs constitue un outil précieux dans le diagnostic d'affections malignes. La technique des hybridomes de Köhler et Milstein permet d'obtenir des réactifs immunologiques spécifiques (anticorps monoclonaux, AMC) capables de détecter les antigènes associés aux tumeurs. Un anticorps monoclonal de ce type, l'AMC C-50, a été obtenu après immunisation à l'aide d'une lignée cellulaire d'un adénocarcinome colorectal, la Colo 205. L'AMC C-50 reconnaît deux chaînes hydrocarbonées différentes, à savoir le Lewis-a sialylé et le lactotétraose sialylé jusqu'ici inconnu. On trouve essentiellement des structures contenant le CA-50 dans les cancers gastro-intestinaux (par exemple, cancers du pancréas, de l'estomac, du foie et colorectal), mais aussi parfois dans certaines autres tumeurs malignes (cancers de l'endomètre). Les antigènes CA-50 sont présents dans la membrane cellulaire sous une forme liée aux lipides (ganglioside) et sous une forme liée à une protéine de haut poids moléculaire (glycoprotéine). Les antigènes CA-50 sont libérés par les tumeurs dans la circulation sanguine, où ils peuvent être spécifiquement détectés à l'aide de techniques immunologiques basées sur l'AMC C-50.

Le CA-50 n'est normalement détectable qu'en faibles concentrations dans le sérum des hommes et des femmes en bonne santé. Une légère augmentation des concentrations de CA-50 peut parfois être observée chez des patients porteurs d'affections bénignes.

Des taux pathologiquement accrus de CA-50 sérique sont enregistrés en présence de tumeurs productrices de CA-50, par exemple des tumeurs du pancréas, du tube gastro-intestinal, de l'endomètre, ou encore de la vessie. En cas de suspicion d'une affection maligne et d'observation de taux élevés de CA-50, des examens complémentaires sont recommandés. La principale indication de la détermination du CA-50 réside dans le suivi des patients porteurs de tumeurs, c'est-à-dire le suivi de l'efficacité thérapeutique et de l'évolution de la maladie dans le temps et la détermination du pronostic.

Les affections bénignes peuvent présenter des valeurs de CA-50 supérieures à la normale ; ceci se produit fréquemment en cas de pancréatite aiguë et chronique, de colite ulcéreuse, de maladie de Crohn, de cirrhose du foie et d'hépatite, par exemple.

IV. PRINCIPES DE LA MÉTHODE

La trousse DIAsource CA 50 IRMA permet la détermination in vitro de l'antigène CA-50 dans le sérum (ou plasma) humain d'après le principe d'un test « sandwich » en deux étapes. Un complexe d'anticorps anti-CA-50 (monoclonaux murins) liés à la paroi du tube, de CA-50 dans l'échantillon et d'anticorps anti-CA-50 marqués à l'I¹²⁵ (monoclonaux murins) se forme. Après la réaction, la fraction de traceur libre est éliminée par aspiration et lavage. La quantité de traceur spécifiquement lié aux tubes à essai enduits est mesurée à l'aide d'un compteur à scintillation gamma. L'évaluation des résultats fournis par les échantillons inconnus est effectuée par lecture sur une courbe standard établie dans des conditions identiques.

V. RÉACTIFS FOURNIS

Réactifs	Trousse de 96 tests	Reconstitution
Tubes enduits d'anti-CA-50 (anticorps monoclonaux murins)	2 x 48	Prêt à l'emploi
Anti-CA-50 marqués à l'I ¹²⁵ (anticorps monoclonaux murins) dans un tampon contenant des immunoglobulines de souris non spécifiques, de l'albumine sérique bovine, de l'azoture de sodium et du colorant rouge.	1 flacon 22 ml 344 kBq	Prêt à l'emploi
Calibrateur zéro dans un tampon et de l'azoture de sodium.	1 flacon 0,5 ml liquide	Prêt à l'emploi
Calibrateurs 1-6 : antigène CA-50 humain dans un sérum humain, un tampon et de l'azoture de sodium. (voir les valeurs exactes sur l'étiquette du flacon)	6 flacons 0,5 ml liquide	Prêt à l'emploi
Contrôle : antigène CA-50 humain dans un sérum humain et de l'azoture de sodium. (voir les valeurs exactes sur l'étiquette du flacon)	2 flacons 0,5 ml liquide	Prêt à l'emploi
Tampon d'incubation contenant de l'albumine sérique bovine, des immunoglobulines bovines, du colorant bleu et de l'azoture de sodium.	1 flacon 25 ml liquide	Prêt à l'emploi
Solution de lavage (tampon de phosphate).	1 flacon 50 ml	Diluer 25 fois avec de l'eau distillée (utiliser un mélangeur magnétique).

VI. MATÉRIEL NON FOURNI

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

1. Eau distillée
2. Micropipettes de précision ou matériel similaire permettant la distribution de 50 µl et 200 µl (l'utilisation de pipettes précises et d'embouts jetables en plastique est recommandée)
3. Tubes en plastique jetables
4. Agitateur vortex
5. Mélangeur magnétique
6. Agitateur de tubes : circulaire horizontal (300 t/m)
7. Seringue automatique de 5 ml (type Cornwall) pour le lavage
8. Système d'aspiration (facultatif)
9. N'importe quel compteur à scintillation gamma capable de mesurer l'iode 125 peut être utilisé (rendement minimal 70 %).

VII. PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Solution de lavage de travail : préparer un volume adéquat de solution de lavage de travail en ajoutant 24 volumes d'eau distillée à 1 volume de solution de lavage (25 x). Utiliser un mélangeur magnétique pour homogénéiser. Jeter toute solution de lavage de travail non utilisée à la fin de la journée.

VIII. CONSERVATION ET DATES DE PÉREMPTION DES RÉACTIFS

- Avant ouverture, tous les composants de la trousse sont stables jusqu'à leur date d'expiration mentionnée sur l'étiquette du flacon, s'ils sont conservés entre 2 et 8 °C.
- La solution de lavage de travail doit être utilisée le jour où elle a été préparée.
- Après sa première utilisation, le traceur est stable jusqu'à la date d'expiration s'il est conservé entre 2 et 8 °C dans le flacon d'origine bien fermé.
- Des altérations dans l'apparence physique des réactifs de la trousse peuvent indiquer une instabilité ou une détérioration.

IX. RECUEIL ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Le dosage s'effectue directement sur sérum. Si le dosage est effectué dans les 3 jours qui suivent le prélèvement, les échantillons de sérum peuvent être conservés à 2-8 °C. Dans le cas contraire, ils doivent être divisés en parties aliquotes qui seront conservées congelées (-20 °C).

Éviter de recongeler un échantillon après décongélation. Après décongélation ou sortie du réfrigérateur, bien agiter les échantillons.

Dilutions : en cas de suspicion de taux élevés de CA-50, les dilutions doivent être préparées avec le tampon d'incubation.

X. MODE OPÉRATOIRE

A. Remarques concernant la manipulation

Ne pas utiliser la trousse ou ses composants au-delà de la date d'expiration. Ne pas mélanger de matériel provenant de trousse de lots différents. Amener tous les réactifs à température ambiante (18-25 °C) au moins 30 minutes avant utilisation.

Pour éviter toute contamination croisée, utiliser un nouvel embout de pipette jetable pour l'ajout de chaque réactif et échantillon. Bien mélanger tous les réactifs et les échantillons en agitant ou en tournant doucement.

Des pipettes de grande précision ou un équipement de pipetage automatisé améliorent la précision. Respecter les durées d'incubation.

Préparer une courbe d'étalonnage pour chaque passage ; ne pas utiliser les données de passages précédents.

B. Procédure

1. Étiqueter les tubes enduits en double pour chaque calibrateur, échantillon et contrôle. Pour la détermination des coups totaux, étiqueter 2 tubes en plastique jetables non enduits.
2. Passer brièvement les calibrateurs, les échantillons et le contrôle à l'agitateur vortex. Respecter l'ordre dans lequel les réactifs doivent être ajoutés.
3. Distribuer 50 µl de calibrateur, de contrôles ou d'échantillon à doser au fond des tubes préparés à cet effet. Utiliser un nouvel embout de pipette pour chaque échantillon.
4. Distribuer 200 µl de tampon dans chaque tube.
5. Agiter les tubes dans un agitateur horizontal (300 t/m) pendant 2 heures à une température comprise entre 18 et 25 °C.
6. Laver les tubes enduits comme suit :
 - Aspirer le contenu des tubes aussi complètement que possible.
 - S'assurer que l'embout en plastique de l'aspirateur atteint le fond du tube enduit afin d'enlever tout le liquide.
 - Ajouter 1,0 ml de solution de lavage de travail dans chaque tube.
 - Éviter la formation de mousse pendant l'ajout de la solution de lavage de travail.
 Répéter cette opération deux fois.
7. Ajouter 200 µl d'anti-CA-50 marqués à l'I¹²⁵ dans tous les tubes.
8. Agiter les tubes dans un agitateur horizontal pendant 2 heures à une température comprise entre 18 et 25 °C.
9. Laver les tubes enduits (sauf les coups totaux) comme décrit précédemment.
10. Après le dernier lavage, maintenir les tubes en position verticale pendant deux minutes et aspirer la goutte de liquide restante.
11. Mesurer la radioactivité restante liée aux tubes enduits avec un compteur à scintillation gamma pendant 60 secondes.

XI. CALCUL DES RÉSULTATS

1. Calculer la moyenne des déterminations réalisées en double.
2. Exprimer le CPM (ordonnée) de chaque calibrateur en fonction de la concentration correspondante de CA 72-4 (abscisse), et tracer la courbe

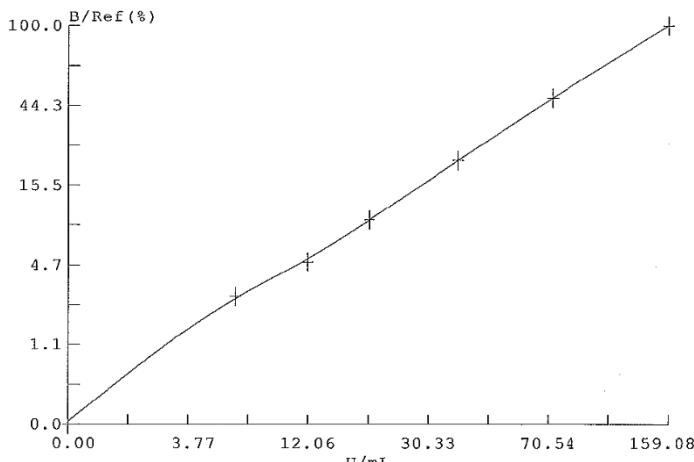
d'étalonnage à travers les points du calibrateur, rejeter les valeurs aberrantes évidentes.

3. Lire la concentration de chaque contrôle et échantillon par interpolation sur la courbe d'étalonnage.
4. Un programme informatique de réduction de données simplifiera ces calculs. Si un système automatique de traitement des résultats est utilisé, il est recommandé d'utiliser la fonction logistique à 4 paramètres de lissage de courbes.

XII. COURBE D'ÉTALONNAGE TYPE

Les données suivantes sont fournies uniquement à titre d'illustration et ne devront jamais être utilisées à la place de la courbe d'étalonnage en temps réel.

CA 50 IRMA		CPM
Calibrateur	0,0 U/ml 6,3 U/ml 12,1 U/ml 19,6 U/ml 37,5 U/ml 72,7 U/ml 159,1 U/ml 15,3 U/ml 51,1 U/ml	868 2267 3348 5592 11899 25262 51091 4313 17064
Contrôle		



XIII. PERFORMANCE ET LIMITES

A. Limite de détection

La limite de détection est définie comme étant la plus petite concentration détectable au-dessus de 0. Elle a été évaluée à 0,9 U/ml.

B. Interférence

La présence de bilirubine à des concentrations allant jusqu'à 0,5 mg/ml, d'hémoglobine jusqu'à 20 mg/ml et de triglycérides jusqu'à 25 mg/ml n'a aucun effet sur les résultats du test. Le dosage immunologique est protégé contre les anticorps hétérophiles. Cependant, nous ne pouvons pas garantir que cette protection est exhaustive.

C. Précision

INTRA-ESSAI				INTER-ESSAI			
Sérum	Réplicat	Moyenne (U/ml)	CV (%)	Sérum	Réplicat	Concentrati on (U/ml)	CV (%)
A	20	13,1	6,5	C	13	50,9	6,5
B	20	51,0	4,1	D	13	13,0	6,7

CV : coefficient de variation

D. Exactitude

TEST DE RÉCUPÉRATION :

Des quantités connues de CA-50 ont été ajoutées à des sérums humains. Les pourcentages de récupération des échantillons allaient de 102 à 120 %.

TEST DE DILUTION :

Les échantillons présentant des concentrations élevées de CA-50 ont été dilués. Les pourcentages de récupération obtenus allaient de 91 à 108 %.

E. Spécificité

Les anticorps monoclonaux utilisés dans ce dosage garantissent la mesure spécifique de l'antigène CA-50.

XIV. LIMITATIONS

- Ne pas extrapoler les valeurs des échantillons au-delà du dernier calibrateur. Diluer les échantillons concernés et les redosier.
- La trousse DIAsource CA-50 permet de mesurer des concentrations de 0,2 à 175 U/ml de CA-50.

XV. CONTRÔLE QUALITÉ INTERNE

- Si les résultats obtenus pour le contrôle ne se trouvent pas dans la plage spécifiée sur l'étiquette du flacon, ils ne peuvent pas être utilisés à moins de pouvoir expliquer l'incohérence d'une manière satisfaisante.
- Au besoin, chaque laboratoire peut créer ses propres stocks d'échantillons de contrôle, qui doivent être conservés au congélateur sous forme d'aliquotes. Ne pas congeler/décongeler plus de deux fois.
- Les critères d'acceptation pour les écarts des valeurs en double des échantillons doivent être basés sur les bonnes pratiques de laboratoire.

XVI. INTERVALLES DE RÉFÉRENCE

La plage normale pour le CA-50 a été déterminée à l'aide de 57 échantillons de sérum d'hommes et de femmes en bonne santé. L'évaluation statistique a démontré une concentration de 22,9 U/ml pour le 90^e percentile et de 23,5 U/ml pour le 95^e percentile.

XVII. PRÉCAUTIONS ET MISES EN GARDE

Sécurité

Pour diagnostic *in vitro* uniquement.

Cette trousse contient de l'¹²⁵I (demi-vie : 60 jours), émettant des rayons X (28 keV) et γ (35,5 keV) ionisants.

Ce produit radioactif peut être uniquement transféré à des personnes habilitées qui sont les seules à pouvoir l'utiliser ; l'achat, le stockage, l'utilisation et l'échange de produits radioactifs sont soumis à la loi du pays de l'utilisateur final. En aucun cas, le produit ne peut être administré à l'être humain ou à des animaux.

Toute manipulation de produits radioactifs doit être effectuée dans une zone désignée, à l'écart des zones de passages réguliers. Un registre de la réception et du stockage de matériaux radioactifs doit être conservé dans le laboratoire. L'équipement et la verrerie de laboratoire susceptibles d'avoir été contaminés par des substances radioactives doivent être isolés afin d'éviter une contamination croisée de différents radio-isotopes.

Toute fuite radioactive doit être immédiatement nettoyée conformément aux procédures relatives à la radio-sécurité. Les déchets radioactifs doivent être éliminés conformément aux réglementations locales et aux directives des autorités ayant compétence sur le laboratoire. Le respect des règles élémentaires de sûreté radiologique permet une protection adéquate.

Les composants de sang humain inclus dans cette trousse ont été évalués par des méthodes approuvées par l'Europe et/ou la FDA et se sont avérés négatifs pour HBsAg, l'anti-VHC, l'anti-VIH-1 et 2. Aucune méthode connue ne permet de garantir à 100 % que les dérivés de sang humain ne transmettront pas l'hépatite, le SIDA ou d'autres infections. Par conséquent, le traitement des réactifs, du sérum ou des échantillons de plasma devra être conforme aux procédures locales de sécurité. Tous les produits animaux et leurs dérivés ont été prélevés sur des 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.

Éviter tout contact de la peau avec les réactifs (azoture de sodium en tant que conservateur). L'azoture présent dans cette trousse peut réagir avec le plomb et le cuivre dans les canalisations et former ainsi des azotures métalliques fortement explosifs. Pendant l'étape de lavage, rincer les canalisations avec une grande quantité d'eau pour éviter toute accumulation d'azoture.

Ne pas fumer, boire, manger, ni appliquer de produits cosmétiques dans la zone de travail. Ne pas pipeter avec la bouche. Utiliser des vêtements de protection et des gants jetables.

XVIII. RÉSUMÉ DU PROTOCOLE

	COUPS TOTaux μl	CALIBRATEURS μl	ÉCHANTILLO N(S) CONTRÔLE μl
Calibrateurs (0-6) Contrôle ou échantillons Tampon	- - -	50 - 200	- 50 200
Incubation	2 heures entre 18 et 25 °C en agitant en continu (à 300 t/m)		
Séparation Solution de lavage de travail Séparation Solution de lavage de travail Séparation	- - - - -	Aspirer 1,0 ml Aspirer 1,0 ml Aspirer	
Traceur	200	200	200
Incubation	2 heures entre 18 et 25 °C en agitant en continu (à 300 t/m)		
Séparation Solution de lavage de travail Séparation Solution de lavage de travail	- - - -	Aspirer 1,0 ml Aspirer 1,0 ml Aspirer	
Comptage	Compter les tubes pendant 60 secondes		

D'autres traductions de cette notice peuvent être téléchargées de notre site Internet : <https://www.diasource-diagnostics.com/>

N° de référence DIAsource : OCFM07-CA50	N° de révision : 220524
--	----------------------------

Date de révision : 24/05/2022



nl

Neem het volledige protocol door voor gebruik.

CA 50 IRMA

I. BEOOGD GEBRUIK

Immunoradiometrische assaykit voor de in vitro kwantitatieve meting van CA 50-antigeen in menselijk serum.

De kit is bedoeld voor professioneel gebruik.

II. ALGEMENE INFORMATIE

A. Handelsnaam: DIAsource CA 50 IRMA Kit

B. Catalogusnummer: OCFM07-CA50 96 tests

C. Vervaardigd door: DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, België.

Neem voor technische bijstand of bestelinformatie contact op met:
Tel.: +32 (0)10 84.99.11 Fax: +32 (0)10 84.99.91

III. KLINISCHE ACHTERGROND

Tumorcellen brengen in het celmembraan stoffen tot expressie die gewoonlijk niet in gezonde celmembranen worden geproduceerd. De bepaling van deze tumorgeassocieerde structuren is een waardevol hulpmiddel bij de diagnose van kwaadaardige aandoeningen. Met behulp van de hybridoma-techniek van Köhler en Milstein kunnen specifieke immunologische reagentia (monoklonale antilichamen, MAB) worden verkregen die tumorgeassocieerde antigenen herkennen. Een dergelijk monoklonaal antilichaam, C-50 MAB, werd verkregen na immunisatie met behulp van een colorectale adenocarcinoom cellijn, Colo 205. Het C-50 MAB herkent twee verschillende koolhydraatketens, de gesialyleerde Lewis-a en de tot nog toe onbekende gesialyleerde lactotetraose. Structuren die CA-50 bevatten worden hoofdzakelijk aangetroffen in gastro-intestinale kankers (bv. pancreas-, maag-, lever- en colorectale kankers) maar soms ook in andere kwaadaardige gezwellen (endometriumkankers). De CA-50 antigenen komen in de celmembraan voor in een lipidegebonden vorm (als ganglioside) en in een vorm gebonden aan een eiwit met een hoog moleculair gewicht (als glycoproteïne). De CA-50 antigenen komen door de tumoren in de bloedstroom terecht, waar ze specifiek kunnen worden opgespoord met behulp van immunologische technieken op basis van C-50 MAB. CA-50 is normaal slechts in lage concentraties detecteerbaar in het serum van gezonde mannen en vrouwen. Een lichte verhoging van CA-50 concentraties kan soms worden waargenomen bij patiënten met goedaardige aandoeningen.

Pathologisch verhoogde serum CA-50-spiegels worden aangetroffen in aanwezigheid van CA-50-producerende tumoren, bv. tumoren van de pancreas, het maagdarmkanaal, het endometrium en de blaas.

Als een kwaadaardige aandoening wordt vermoed en verhoogde CA-50-spiegels worden waargenomen, worden aanvullende tests aanbevolen. De belangrijkste indicatie voor de bepaling van CA-50 is de follow-up van tumorpatiënten, d.w.z. de bewaking van de doeltreffendheid van de behandeling en de bewaking van het verloop van de ziekte in de tijd en de bepaling van de prognose.

Goedaardige aandoeningen kunnen leiden tot CA-50-waarden boven het normale bereik; dit komt bijvoorbeeld vaak voor bij acute en chronische pancreatitis, colitis ulcerosa, de ziekte van Crohn, levercirrose en hepatitis.

IV. PRINCIPES VAN DE METHODE

De DIAsource CA 50 IRMA in vitro assay van het CA-50 antigeen in menselijk serum (of plasma) met behulp van het 2-staps "sandwich"-testprincipe. Er wordt een complex gevormd van anti-CA-50 antilichamen (monoklonaal, muis) gebonden aan de buiswand, CA-50 in het staal en ^{125}I -gelabelde anti-CA-50 antilichamen (monoklonaal, muis). Na de reactie wordt de vrije tracerfractie verwijderd door aspiratie en wassen.

De hoeveelheid tracer die specifiek aan de gecoate reageerbuisjes is gebonden, wordt gemeten met een gammascintillatieteller.

De resultaten van onbekende stalen worden geëvalueerd door aflezing van een onder identieke omstandigheden geconstrueerde standaardcurve.

V. GELEVERDE REAGENTIA

Reagentia	96 tests Kit	Reconstitutie
Buisjes gecoat met CA50 (monoklonale antilichamen uit muizen)	2 x 48	Klaar voor gebruik
Ab ^{125}I Anti-CA 50 ^{125}I (monoklonale antilichamen uit muizen) in buffer met niet-specificke immunoglobulinen uit muizen, bovien serumalbumine, natriumazide, muis en rode kleurstof.	1 ampul 22 ml 344 kBq	Klaar voor gebruik
CAL N Nukalibrator in buffer en natriumazide	1 ampul 0,5 ml vloeistof	Klaar voor gebruik
CAL N Kalibratoren 1-6: menselijk CA 50-antigeen in menselijk serum, buffer en natriumazide. (Zie exacte waarde op de labels van de ampullen)	6 ampullen 0,5 ml vloeistof	Klaar voor gebruik
CONTROL N Controlestaal: menselijk CA 50-antigeen in menselijk serum en natriumazide. (Zie exacte waarde op het label van de ampul)	2 ampullen 0,5 ml vloeistof	Klaar voor gebruik
BUFFER Incubatiebuffer met bovien serumalbumine, boviene immunoglobulinen, blauwe kleurstof en natriumazide.	1 ampul 25 ml vloeistof	Klaar voor gebruik
WASH SOLN CONC Wasoplossing (fosfaatbuffer)	1 ampul 50 ml	Verdun 25x met gedistilleerd water (gebruik een magneetroerder).

VI. NIET-GELEVERDE MATERIALEN

Het volgende benodigde materiaal wordt niet met de kit geleverd:

1. Gedistilleerd water
2. Precisiemicropipetten of gelijkaardig, voor de aanbrenging van: 50 μl en 200 μl (het gebruik van nauwkeurige pipetten met plastic punten voor eenmalig gebruik is aanbevolen).
3. Plastic buisjes voor eenmalig gebruik
4. Vortexmixer
5. Magneetroerder
6. Buisjesschudder: circulair horizontaal (300 omw./min)
7. 5 ml automatische spuit (type Cornwall) voor het spoelen
8. Aanzuigstelsel (optioneel)
9. Eender welke gammascintillatieteller die jodium-125 kan meten, kan worden gebruikt (minimumrendement 70%).

VII. VOORBEREIDING VAN DE REAGENTIA

Wasoplossing: Bereid een adequaat volume wasoplossing door 24 volumes gedistilleerd water toe te voegen aan 1 volume wasoplossing (25x). Gebruik een magneetroerder om te homogeniseren. Gooi ongebruikte wasoplossing weg aan het einde van de dag.

VIII. OPSLAG EN BEPALING VAN DE VERVALDATUM VAN DE REAGENTIA

- Vóór opening zijn alle componenten van de kit stabiel tot de vervaldatum die op het label op de ampul is vermeld, mits bewaard bij 2 tot 8°C.
- Een vers bereide wasoplossing moet op dezelfde dag worden gebruikt.
- Na het eerste gebruik is de tracer stabiel tot op de vervaldatum, mits bij 2 tot 8°C bewaard in de goed gesloten originele ampul.
- Wijzigingen in het fysieke uiterlijk van reagentia kunnen wijzen op instabiliteit of achteruitgang.

IX. VERZAMELING EN VOORBEREIDING VAN HET SPECIMEN

De test wordt rechtstreeks op het serum uitgevoerd. Indien de test moet worden uitgevoerd binnen 3 dagen nadat het staal is genomen, kunnen de serumstalen worden bewaard bij 2-8°C.

Zo niet, dan moeten ze worden verdeeld in aliquots die bevroren (-20°C) moeten worden bewaard.

Vermijd het opnieuw invriezen van een staal na het ontdooien. Na het ontdooien of uit de koelkast halen, de stalen goed schudden.

Verdunningen: Als hoge CA-50 niveaus worden vermoed, moeten verdunningen worden bereid met incubatiebuffer.

X. PROCEDURE

A. Opmerkingen over het gebruik

Gebruik de kit of de componenten niet na de vervaldatum. Meng materialen van verschillende kitpartijen niet met elkaar. Breng alle reagentia minstens 30 minuten voor gebruik op kamertemperatuur (18-25°C).

Vermijd kruisbesmetting door een schone pipetpunt voor eenmalig gebruik te gebruiken voor de toevoeging van elke reagens en elk staal. Meng alle reagentia en stalen zorgvuldig met elkaar door zachtjes te schudden of te zwieren.

Hogeprecisiepipetten of geautomatiseerde pipetten bieden extra precisie. Houd u aan de incubatietijden.

Bereid voor elke reeks een kalibratiecurve voor; gebruik geen gegevens uit eerdere reeksen.

B. Procedure

1. Etiketteer de gecoate buisjes in dupliaat voor elke kalibrator, elk staal en elk controlestaal. Etiketteer 2 niet-gecoate plastic buisjes voor eenmalig gebruik om de totaal telling te bepalen.
2. Mix de kalibratoren, stalen en controleslagen kort in de vortexmixer.
Voeg de reagentia in de juiste volgorde toe:
3. Verdeel 50 μl kalibrator, controleslagen of stalen die moeten worden getest over de bodem van de daartoe voorbereide buisjes. Gebruik een nieuwe pipetpunt voor elk staal.
4. Verdeel 200 μL buffer in elk buisje.
5. Schud de buisjes op een horizontaal roersysteem (300 omw./min.) gedurende 2 uur bij een temperatuur tussen 18 en 25 °C.
6. Spoel de gecoate buisjes als volgt:
 - Aspireer de inhoud van de buisjes zo volledig mogelijk.
 - Zorg dat de plastic punt van de aspirator de bodem van het gecoate buisje raakt, zodat alle vloeistof wordt opgezogen.
 - Voeg 1,0 ml wasoplossing toe aan elk buisje.
 - Vermijd schuimvorming tijdens de toevoeging van de wasoplossing.
7. Herhaal dit proces twee keer.
8. Voeg 200 μl anti-CA 50 ^{125}I toe aan elk buisje.
9. Schud de buisjes gedurende 2 uur op een horizontaal roersysteem bij een temperatuur tussen 18 en 25°C.
10. Laat de buisjes na de laatste spoelbeurt twee minuten rechtop staan en aspireer de resterende druppel vloeistof.
11. Meet de resterende radioactiviteit die aan de gecoate buisjes is gebonden gedurende 60 seconden met een gammascintillatieteller.

XI. BEREKENING VAN DE RESULTATEN

1. Bereken het gemiddelde van de dubbele bepalingen.
2. Bepaal de cpm (ordinaat) voor elke kalibrator ten opzichte van de bijbehorende concentratie CA72-4 (abscissen) en teken een kalibratiecurve

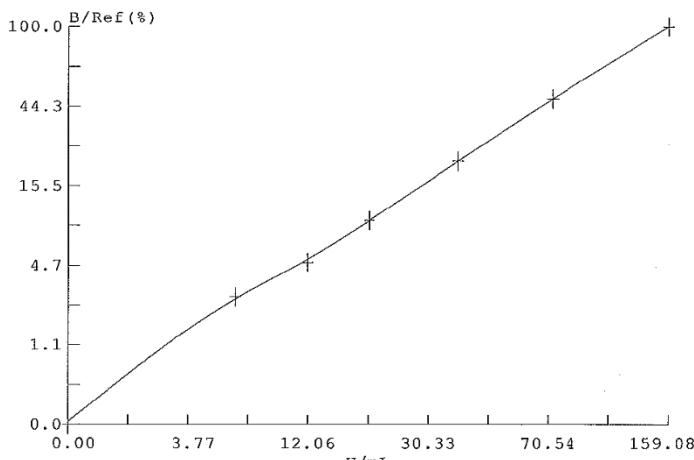
door de kalibratorpunten met elkaar te verbinden, waarbij duidelijke uitschieters worden genegeerd.

3. Lees de concentratie voor elk controlestaal en elk staal af door interpolatie op de kalibratiecurve.
4. Computerondersteunde datareductie maakt deze berekeningen eenvoudiger. Indien wordt gebruikgemaakt van automatische resultaatverwerking, is een logistische functiecurve met 4 parameters aanbevolen.

XII. TYPISCHE KALIBRATIECURVE

De volgende gegevens zijn enkel ter illustratie en moeten nooit in plaats van de daadwerkelijke kalibratiecurve worden gebruikt.

CA 50 IRMA		cpm
Kalibrator		
	0,0 U/ml	868
	6,3 U/ml	2267
	12,1 U/ml	3348
	19,6 U/ml	5592
	37,5 U/ml	11899
	72,7 U/ml	25262
	159,1 U/ml	51091
	15,3 U/ml	4313
	51,1 U/ml	17064
Controlestaal		



XIII. PRESTATIES EN BEPERKINGEN

A. Detectiegrens

De detectiegrens wordt gedefinieerd als de kleinst detecteerbare concentratie boven 0. Deze is vastgesteld op 0,9 U/ml.

B. Interferenties

De aanwezigheid van bilirubine in concentraties tot 0,5 mg/ml, hemoglobine tot 20 mg/ml en triglyceriden tot 25 mg/ml hebben geen invloed op de testresultaten. De immuno-assay is beschermd tegen heterofiele antilichamen. Wij kunnen echter niet garanderen dat deze bescherming volledig is.

C. Precisie

INTRA-ASSAY				INTER-ASSAY			
Serum	Replicati e	Concentra tie (U/ml)	VC (%)	Serum	Replicati e	Concentra tie (U/ml)	VC (%)
A	20	13,1	6,5	C	13	50,9	6,5
B	20	51,0	4,1	D	13	13,0	6,7

VC: Variatiecoëfficiënt

D. Nauwkeurigheid

RECUPERATIETEST:

Er werden bekende hoeveelheden CA-50 aan menselijke serums toegevoegd. De recuperatiepercentages van de stalen lagen tussen 102 en 120%.

VERDUNNINGSTEST:

Stalen met hoge concentraties CA-50 werden verdunt. De recuperatiepercentages lagen tussen 91 en 108%.

E. Specificiteit

De monoklonale antilichamen die in deze test worden gebruikt, garanderen een specifieke meting van het CA-50 antigen.

XIV. BEPERKINGEN

- Extrapoleer geen staalwaarden voorbij de laatste kalibrator. Verdun de betrokken stalen en test opnieuw.
- Met de DiaSource CA-50 kit kunnen concentraties van 0,2 tot 175 U/ml CA-50 worden gemeten.

XV. INTERNE KWALITEITSCONTROLE

- Indien de voor het controlestaal verkregen resultaten niet binnen de waarden vallen die op het etiket van de ampul vermeld staan, kunnen de resultaten niet worden gebruikt tenzij een bevredigende verklaring is gevonden voor deze afwijking.
- Indien gewenst kan elk laboratorium zijn eigen verzameling controlestalen aanmaken. Die moeten bewoerd in aliquots worden bewaard. Bevries en ontdooi de controlestalen niet meer dan twee keer.
- De acceptatiecriteria voor het verschil tussen dubbele staalresultaten moeten gebaseerd zijn op goede laboratoriumpraktijken.

XVI. REFERENTIE-INTERVALLEN

Het normale bereik voor CA-50 werd bepaald aan de hand van 57 stalen serum van gezonde mannen en vrouwen. Uit statistische evaluatie bleek een concentratie van 22,9 U/ml voor het 90ste percentiel en van 23,5 U/ml voor het 95ste percentiel.

XVII. VOORZORGSMAAATREGELEN EN WAARSCHUWINGEN

Veiligheid

Uitsluitend bestemd voor *in vitro* diagnostiek.

Deze kit bevat ^{125}I (halfwaardetijd: 60 dagen) die ioniserende X- (28 keV) en y-straling (35,5 keV) uitzendt.

Dit radioactieve product mag alleen aan bevoegde personen worden overgedragen en alleen door hen worden gebruikt; aankoop, opslag, gebruik en uitwisseling van radioactieve producten is onderworpen aan de wetgeving in het land van de eindgebruiker. Het product mag in geen geval aan mensen of dieren worden toegediend.

Alle radioactieve hantering moet plaatsvinden in een daarvoor aangewezen zone, verwijderd van algemeen verkeer. In het lab moet een logboek worden bijgehouden van de ontvangst en opslag van radioactieve materialen. Laboratoriumuitrustingen en glaswerk dat met radioactieve stoffen besmet kan zijn, moet apart worden gehouden om kruisbesmetting met verschillende radio-isotopen te vermijden. Eventuele lekkages van radioactief materiaal moeten onmiddellijk worden opgeruimd in overeenstemming met de procedures voor stralingsbescherming. Het radioactieve afval moet worden verwijderd in overeenstemming met de plaatselijke wettelijke bepalingen en de richtlijnen van de autoriteiten die bevoegd zijn voor het laboratorium. Opvolging van de basisregels voor stralingsbescherming volstaat voor toereikende bescherming.

De menselijke bloedcomponenten in deze kit zijn getest volgens door Europa en/of de FDA goedgekeurde methodes en zijn negatief bevonden voor HbsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 en anti-HIV-2. Geen enkele bekende methode kan volledige zekerheid bieden dat van menselijk bloed afgeleide producten geen hepatitis, AIDS of andere infecties zullen overbrengen. Daarom moet het hanteren van reagentia, serum of plasmaspromulgaties plaatsvinden in overeenstemming met de plaatselijke veiligheidsprocedures.

Alle dierlijke producten en afgeleide producten zijn afkomstig van gezonde dieren. Boviene componenten zijn afkomstig van landen waar geen BSE is gemeld. Desalniettemin moeten componenten die dierlijke bestanddelen bevatten, als potentieel infectieus worden beschouwd.

Vermijd huidcontact met reagentia (natriumazide als conservermiddel). Azide in deze kit kan reageren met lood en koper in afvoerleidingen en kan zo uiterst explosieve metaalaziden vormen. Spoel tijdens de spoelstap de afvoer door met een grote hoeveelheid water om opbouw van azide te voorkomen.

In de werkzone moet niet worden gerookt, gedronken of cosmetica worden aangebracht. Pipetteer niet met de mond. Gebruik beschermende kleding en wegwerphandschoenen.

XVIII. SAMENVATTING VAN HET PROTOCOL

	TOTAAL TELLIN GEN µl	KALIBRATOREN µl	STAAL/STAL EN CONTROLE µl
Kalibratoren (0-6) Controlestaal of Stalen Buffer	- - -	50 - 200	- 50 200
Incubatie	2 uur bij 18-25°C, onder continu schudden (300 omw./min)		
Separatie Wasoplossing Separatie Wasoplossing Separatie	- - - - -	Aspireer 1,0 ml Aspireer 1,0 ml Aspireer	
Tracer	200	200	200
Incubatie	2 uur bij 18-25°C, onder continu schudden (300 omw./min)		
Separatie Wasoplossing Separatie Wasoplossing Separatie	- - - - -	Aspireer 1,0 ml Aspireer 1,0 ml Aspireer	
Telling	Tel de buisjes gedurende 60 seconden		

Andere vertalingen van deze Gebruiksinstructies kunnen worden gedownload
vanaf onze website:<https://www.diasource-diagnostics.com/>

DIAsource Catalogusnr.: OCFM07-CA50	Revisienummer: 220524
--	--------------------------

Revisedatum: 24/05/2022



DE

Vor Gebrauch des Kits lesen Sie bitte diese Packungsbeilage.

CA 50 IRMA

I. VERWENDUNGSZWECK

Immunenzymetrisches Assay für die quantitative in vitro Bestimmung von Cancer-Antigen 50 (CA 50) in menschlichem Serum.

Dieses Kit ist nur für den professionellen Gebrauch bestimmt.

II. ALLGEMEINE INFORMATION

A. Handelsbezeichnung: DIAsource CA 50 IRMA Kit

B. Katalognummer: OCFM07-CA50: 96 Tests

C. Hersteller: DIAsource ImmunoAssays S.A.

Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgien.

Für technische Unterstützung oder Bestellinformationen wenden Sie sich bitte an:

Tel.: +32 (0)10 84 99 11 Fax: +32 (0)10 84 99 91

III. KLINISCHER HINTERGRUND

Tumorzellen exprimieren in der Zellmembran Substanzen, die in gesunden Zellmembranen normalerweise nicht produziert werden. Die Bestimmung dieser tumorassoziierten Strukturen ist ein wertvolles Hilfsmittel bei der Diagnose von malignen Erkrankungen. Mithilfe der Hybridom-Technik von Köhler und Milstein können spezifische immunologische Reagenzien (monoklonale Antikörper, MAB) gewonnen werden, die tumorassoziierte Antigene erkennen. Ein monoklonaler Antikörper dieses Typs, C 50 MAB, wurde nach Immunisierung mit einer kolorektalen Adenokarzinom-Zelllinie, COLO 205, gewonnen. C 50 MAB erkennt zwei verschiedene Kohlenhydratketten, die sialylierte Lewis a-Kohlenhydratstruktur und die bisher unbekannte sialylierte Laktotetraose. Strukturen, die CA 50 enthalten, finden sich vor allem bei gastrointestinalen Krebserkrankungen (z. B. Bauchspeicheldrüsen-, Magen-, Leber- und Darmkrebs), zuweilen aber auch bei anderen Karzinomen (Endometriumkarzinom). Die CA 50-Antigene kommen in der Zellmembran in einer lipidgebundenen Form (als Gangliosid) und in einer an ein Protein mit hohem Molekulargewicht gebundenen Form (als Glykoprotein) vor. Die CA 50-Antigene werden von den Tumoren in den Blutkreislauf freigesetzt, wo sie mit immunologischen Verfahren basierend auf C 50 MAB spezifisch nachgewiesen werden können.

CA 50 ist im Serum von gesunden Männern und Frauen normalerweise nur in geringen Konzentrationen nachweisbar. Eine leichte Erhöhung der CA 50-Konzentration kann gelegentlich bei Patienten mit gutartigen Erkrankungen beobachtet werden.

Pathologisch erhöhte CA 50-Serumspiegel treten bei CA 50 produzierenden Tumoren auf, z. B. bei Tumoren der Bauchspeicheldrüse, des Magen-Darm-Trakts, des Endometriums und der Blase.

Wenn der Verdacht auf eine maligne Erkrankung besteht und erhöhte CA 50-Werte beobachtet werden, werden zusätzliche Tests empfohlen. Die Hauptindikation für die Bestimmung von CA 50 ist die Verlaufskontrolle von Tumorpatienten, d. h. die Überwachung der Wirksamkeit der Behandlung und die Beobachtung des zeitlichen Verlaufs der Erkrankung sowie die Bestimmung ihrer Prognose.

Benigne Erkrankungen können zu CA 50-Werten oberhalb des Normalbereichs führen; dies kommt z. B. häufig bei akuter und chronischer Pankreatitis, Colitis ulcerosa, Morbus Crohn, Leberzirrhose und Hepatitis vor.

IV. GRUNDSÄTZE DER METHODE

Der DIAsource CA 50 IRMA ist ein In-vitro-Assay zum Nachweis von CA 50 in menschlichem Serum (oder Plasma) nach dem 2-Schritt-„Sandwich“-Testprinzip. Es bildet sich ein Komplex aus an die Röhrchenwand gebundenen Anti-CA-50-Antikörpern (monoklonal, Maus), CA 50 in der Probe und 125I-markierten Anti-CA-50-Antikörpern (monoklonal, Maus). Nach der Reaktion wird die freie Tracerfraktion durch Absaugen und Waschen entfernt.

Die Menge des spezifisch an die beschichteten Proberöhrchen gebundenen Tracers wird mit einem Szintillationszähler zur Untersuchung der Gamma-Spektren gemessen.

Die Auswertung der Ergebnisse von unbekannten Proben erfolgt durch Ablesen von einer unter identischen Bedingungen erstellten Standardkurve.

V. MITGELIEFERTE REAGENZIEN

Reagenzien	96 Tests Kit	Rekonstitution
Röhrchen mit Anti-CA 50 beschichtet (monoklonale Maus-Antikörper)	2 x 48	Gebrauchsfertig
Ab 125I Anti-CA 50 1 ¹²⁵ I (monoklonale Maus-Antikörper) in Puffer mit unspezifischen Maus-Immunglobulinen, Rinderserumalbumin, Natriumazid, Maus und rotem Färbemittel.	1 Fläschchen 22 ml 344 kBq	Gebrauchsfertig
CAL 0 Nullkalibrator in Puffer und Natriumazid	1 Fläschchen 0,5 ml Flüssigkeit	Gebrauchsfertig
CAL N Kalibratoren 1-6: humanes CA 50 Antigen in menschlichem Serum, Puffer und Natriumazid. (siehe genauer Wert auf den Fläschchenetiketten)	6 Fläschchen 0,5 ml Flüssigkeit	Gebrauchsfertig
CONTROL N Kontrolle: humanes CA 50 Antigen in menschlichem Serum und Natriumazid. (siehe genauer Wert auf dem Fläschchenetikett)	2 Fläschchen 0,5 ml Flüssigkeit	Gebrauchsfertig
BUFFER Inkubationspuffer mit Rinderserumalbumin, Rinderimmunglobulinen, blauem Färbemittel und Natriumazid.	1 Fläschchen 25 ml Flüssigkeit	Gebrauchsfertig
WASH SOLN CONC Waschlösung (Phosphatpuffer)	1 Fläschchen 50 ml	25-fach mit destilliertem Wasser verdünnen (mit einem Magnetrührer).

VI. NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL

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

- Destilliertes Wasser
- Präzisionsmikropipetten oder ähnliches, zur Abgabe von: 50 µl und 200 µl (Verwendung von Präzisionspipetten mit Einwegpipettenspitzen aus Kunststoff wird empfohlen).
- Einweg-Kunststoffröhrchen
- Vortexmixer
- Magnetrührer
- Röhrchenschüttler: kreisförmig horizontal (300 U/min)
- 5 ml automatische Spritze (Cornwall-Typ) zum Waschen
- Absaugsystem (optional)
- Es kann jeder Szintillationszähler zur Untersuchung der Gamma-Spektren,

der Jod-125 messen kann, verwendet werden (minimale Ausbeute 70 %).

VII. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Arbeitswaschlösung: Ein angemessenes Volumen an Arbeitswaschlösung aus einem Anteil Waschlösung (25 x) mit 24 Anteilen destilliertem Wasser herstellen. Mit einem Magnetrührer homogenisieren. Nicht verwendete Arbeitswaschlösung nach jedem Arbeitstag entsorgen.

VIII. AUFBEWAHRUNG UND VERFALLDATUM DER HALTBARKEIT DER REAGENZIEN

- Vor dem Öffnen sind alle Kitkomponenten bei 2 bis 8 °C bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar.
- Die frisch hergestellte Arbeitswaschlösung sollte am selben Tag aufgebraucht werden.
- Nach der ersten Benutzung ist der Tracer bei Lagerung im dicht verschlossenen Original-Fläschchen und bei 2 bis 8 °C bis zum Verfallsdatum stabil.
- Veränderungen im Aussehen der Kitkomponenten können auf Instabilität bzw. Zerfall hindeuten.

IX. PROBENSAMMLUNG UND -VORBEREITUNG

Der Test wird direkt am Serum durchgeführt. Wenn der Test innerhalb von 3 Tagen nach der Probenentnahme durchgeführt werden soll, können die Serumproben bei 2 bis 8 °C gelagert werden.

Andernfalls sollten sie in aliquote Mengen aufgeteilt werden, die gefroren (-20 °C) gelagert werden müssen.

Wiederholtes Einfrieren einer aufgetauten Probe vermeiden. Nach dem Auftauen oder der Entnahme aus dem Kühlschrank sind die Proben gut zu schütteln.

Verdünnungen: Besteht der Verdacht auf hohe CA 50-Werte, sollten Verdünnungen mit Inkubationspuffer hergestellt werden.

X.DURCHFÜHRUNG

A.Hinweise zur Handhabung

Verwenden Sie den Kit oder dessen Komponenten nicht nach Verfallsdatum. Vermischen Sie Materialien von unterschiedlichen Kit-Chargen nicht. Bringen Sie alle Reagenzien mindestens 30 Minuten vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18 bis 25 °C).

Verwenden Sie zur Zugabe jedes Reagenzes und jeder Probe saubere Einwegpipettenspitzen, um Kreuzkontamination zu vermeiden. Mischen Sie alle Reagenzien und Proben gründlich durch sanftes Schütteln oder Rühren. Präzisionspipetten oder ein automatisches Pipettiersystem erhöhen die Präzision. Achten Sie auf die Einhaltung der Inkubationszeiten.

Erstellen Sie für jeden Durchlauf eine Kalibrierkurve. Verwenden Sie keine Daten von früheren Durchläufen.

B. Verfahren

- Beschichtete Röhrchen für jeden Kalibrator, jede Probe und jede Kontrolle doppelt beschriften. Zur Bestimmung der Gesamtzählung 2 unbeschichtete Einweg-Kunststoffröhrchen beschriften.
- Kalibratoren, Proben und Kontrollen kurz auf dem Vortexmixer mischen. Beachten Sie die Reihenfolge, in der die Reagenzien zugegeben werden müssen:
- Geben Sie 50 µl des Kalibrators, der Kontrollen oder der zu untersuchenden Probe in das untere Ende der zu diesem Zweck vorbereiteten Röhrchen. Verwenden Sie für jede Probe eine neue Pipettenspitze.
- Verteilen Sie 200 µl Puffer in jedes Röhrchen.
- Schütteln Sie die Röhrchen auf einem horizontalen Schüttelsystem (300 U/min) 2 Stunden lang bei einer Temperatur zwischen 18 und 25 °C.
- Waschen Sie die beschichteten Röhrchen wie folgt:
 - Saugen Sie den Inhalt der Röhrchen so vollständig wie möglich ab.
 - Achten Sie darauf, dass die Kunststoffspitze des Saugers das untere Ende des beschichteten Röhrchens erreicht, um die gesamte Flüssigkeit zu entfernen.
 - Geben Sie 1,0 ml der Arbeitswaschlösung in jedes Röhrchen.
 - Vermeiden Sie Schaumbildung während der Zugabe der Waschlösung. Wiederholen Sie diesen Vorgang zweimal.
- Geben Sie 200 µl Anti-CA 50 ¹²⁵I in alle Röhrchen.
- Schütteln Sie die Röhrchen auf einem horizontalen Schüttelsystem 2 Stunden lang bei einer Temperatur zwischen 18 und 25 °C.
- Waschen Sie die beschichteten Röhrchen (Ausnahme: Röhrchen für die Gesamtzählung) wie zuvor beschrieben.
- Nach dem letzten Waschvorgang lassen Sie die Röhrchen zwei Minuten lang aufrecht stehen und saugen Sie die verbleibenden Tropfen Flüssigkeit ab.
- Zählen Sie die verbleibende Radioaktivität, die an die beschichteten Röhrchen gebunden ist, 60 Sekunden lang mit einem Szintillationszähler zur Untersuchung der Gamma-Spektren.

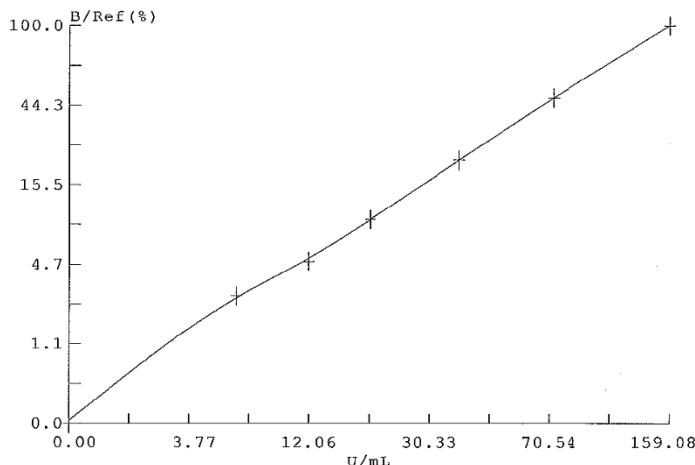
XI. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

- Den Durchschnitt aus den Doppelbestimmungen berechnen.
- Tragen Sie den c.p.m. (Ordinate) für jeden Kalibrator gegen die entsprechende Konzentration von CA72-4 (Abszisse) ein und zeichnen Sie eine Kalibrierkurve durch die Kalibierpunkte, wobei die offensichtlichen „Ausreißer“ ausgeschlossen werden.
- Lesen Sie die Konzentration für jede Kontrolle und Probe durch Interpolation auf der Kalibrierkurve ab.
- Computergestützte Datenreduktion kann diese Berechnungen vereinfachen. Falls die Ergebnisberechnung mit dem Computer durchgeführt wird, empfehlen wir die Berechnung mit einer Vier-Parameter-Kurvenfunktion.

XII. TYPISCHE KALIBRIERKURVE

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

CA 50 IRMA		cpm
Kalibrator	0,0 U/ml 6,3 U/ml 12,1 U/ml 19,6 U/ml 37,5 U/ml 72,7 U/ml 159,1 U/ml 15,3 U/ml 51,1 U/ml	868 2267 3348 5592 11899 25262 51091 4313 17064
Kontrolle		



XIII. LEISTUNGSMERKMALE UND GRENZEN

A. Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze ist definiert als die kleinste nachweisbare Konzentration über 0. Sie wurde mit 0,9 U/ml bewertet.

B. Interferenzen

Das Vorhandensein von Bilirubin in Konzentrationen von bis zu 0,5 mg/ml, Hämoglobin bis zu 20 mg/ml und Triglyceride bis zu 25 mg/ml haben keinen Einfluss auf die Testergebnisse. Der Immunoassay ist gegen heterophile Antikörper geschützt. Wir können jedoch nicht garantieren, dass dieser Schutz vollständig ist.

C. Präzision

INTRA-ASSAY				INTER-ASSAY			
Serum	Replikat	Konzentration (U/ml)	CV (%)	Serum	Replikat	Konzentration (U/ml)	CV (%)
A	20	13,1	6,5	C	13	50,9	6,5
B	20	51,0	4,1	D	13	13,0	6,7

CV: Variationskoeffizient

D. Genauigkeit

WIEDERFINDUNGSTEST:

Menschlichen Seren wurden bekannte Mengen von CA 50 zugesetzt. Die Wiederfindungsraten der Proben reichten von 102 % bis 120 %.

VERDÜNNUNGSTEST:

Proben mit hohen Konzentrationen von CA 50 wurden verdünnt. Die erzielten Wiederfindungsraten reichten von 91 % bis 108 %.

E. Spezifität

Die in diesem Test verwendeten monoklonalen Antikörper garantieren eine spezifische Messung des CA 50-Antigens.

XIV. EINSCHRÄNKUNGEN

- Extrapolieren Sie die Probenwerte nicht über den letzten Kalibrator hinaus. Verdünnen Sie die betreffenden Proben und testen Sie erneut.
- Mit dem DIAsource CA 50-Kit können Konzentrationen von 0,2 bis 175 U/ml CA 50 gemessen werden.

XV. INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

- Entsprechen die Werte bei der Kontrolle nicht dem auf dem Fläschchenetikett angegebenen Bereich, können die Ergebnisse ohne hinreichende Erklärung der Abweichungen nicht verwendet werden.
- Falls gewünscht, kann jedes Labor seine eigenen Pools mit Kontrollproben herstellen, die aliquotiert eingefroren werden sollten. Nicht häufiger als zweimal einfrieren und auftauen.
- Akzeptanzkriterien für die Differenz zwischen den Doppelergebnissen der Proben sollten auf den Regeln für gute Laborpraxis beruhen.

XVI. ZU ERWARTENDE BEREICHE

Der Normalbereich für CA 50 wurde anhand von 57 Serumproben von gesunden Männern und Frauen ermittelt. Die statistische Auswertung ergab eine Konzentration von 22,9 U/ml für das 90. Perzentil und von 23,5 U/ml für das 95. Perzentil.

XVII. VORSICHTMASSNAHMEN UND WARNUNGEN

Sicherheit

Nur zur *In-vitro*-Diagnostik.

Dieses Kit enthält ^{125}I (Halbwertszeit: 60 Tage), das ionisierende X- (28 keV) und γ (35,5 keV) Strahlungen emittiert.

Dieses radioaktive Produkt darf nur an autorisierte Personen abgegeben und darf nur von diesen verwendet werden; Erwerb, Lagerung, Verwendung und Austausch radioaktiver Produkte unterliegen der Gesetzgebung des Landes des Endverbrauchers. In keinem Fall darf das Produkt an Menschen oder Tiere verabreicht werden.

Der gesamte Umgang mit radioaktiven Stoffen sollte fern von Durchgangsverkehr in einem speziell ausgewiesenen Bereich stattfinden. Im Labor muss ein Protokollbuch für den Empfang und die Lagerung radioaktiver Stoffe geführt werden. Kontaminationsgefährdete Laborgeräte und -glaswaren, die mit radioaktiven Stoffen kontaminiert sein könnten, sollten ausgesondert werden, um eine Kreuzkontamination verschiedener Radioisotope zu verhindern. Eventuell verschüttete radioaktive Stoffe müssen sofort gemäß den Strahlenschutzverfahren entfernt werden. Radioaktive Abfälle müssen gemäß den örtlichen Vorschriften und Richtlinien der für das Labor zuständigen Behörden entsorgt werden. Die Einhaltung der Grundregeln des Strahlenschutzes bietet einen angemessenen Schutz.

Die menschlichen Blutkomponenten in diesem Kit wurden mit europäischen und/oder 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 lokalen 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 potentiell ansteckend behandelt werden.

Vermeiden Sie jeglichen Hautkontakt mit den Reagenzien (Natriumazid als Konservierungsmittel). Das in diesem Kit enthaltene Azid kann mit Blei und Kupfer in den Abflussrohren reagieren und auf diese Weise hochexplosive Metallazide bilden. Spülen Sie während der Waschschritte den Abfluss mit viel Wasser, um die Bildung von Aziden zu verhindern.

Bitte im Arbeitsbereich nicht rauchen, trinken, essen oder Kosmetika anwenden. Nicht mit dem Mund pipettieren. Schutzkleidung und Wegwerfhandschuhe tragen.

XVIII. ZUSAMMENFASSUNG DES PROTOKOLLS

	GESAMT ZAHL DER ZÄHLUN GEN µl	KALIBRATOREN µl	PROBE(N) KONTROLLE µl
Kalibratoren (0–6) Kontrolle oder Proben Puffer	- - -	50 - 200	- 50 200
Inkubation	Zwei Stunden bei 18 bis 25 °C unter ständigem Schütteln (300 U/min)		
Separation Arbeitswaschlösung Separation Arbeitswaschlösung Separation	- - - -	Absaugen 1,0 ml Absaugen 1,0 ml Absaugen	
Tracer	200	200	200
Inkubation	Zwei Stunden bei 18 bis 25 °C unter ständigem Schütteln (300 U/min)		
Separation Arbeitswaschlösung Separation Arbeitswaschlösung Separation	- - - -	Absaugen 1,0 ml Absaugen 1,0 ml Absaugen	
Zählung	Röhrchen 60 Sekunden lang zählen		

Andere Übersetzungen dieser Gebrauchsanweisung können von unserer Website heruntergeladen werden: <https://www.diasource-diagnostics.com/>

DIAsource Katalognummer: OCFM07-CA50	Versionsnummer: 220524
---	---------------------------

Versionsstand: 24.05.2022



it

Leggere l'intero protocollo prima dell'uso.

CA 50 IRMA

I. DESTINAZIONE D'USO

Kit di analisi immunoradiometrica per la misurazione quantitativa in vitro dell'antigene CA 50 nel siero umano.

Il kit è destinato all'uso professionale.

II. INFORMAZIONI GENERALI

A. Nome del proprietario: DIAsource CA 50 IRMA Kit

B. Numero di catalogo: OCFM07-CA50: 96 test

C. Prodotto da: DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgio.

Per assistenza tecnica o informazioni sull'ordinazione contattare:
Tel : +32 (0)10 84.99.11 Fax : +32 (0)10 84.99.91

III. BACKGROUND CLINICO

Le cellule tumorali esprimono sostanze nella membrana cellulare che di solito non sono prodotte nelle membrane cellulari sane. La determinazione di queste strutture associate al tumore è uno strumento prezioso nella diagnosi dei disturbi maligni. Utilizzando la tecnica dell'ibridoma di Köhler e Milstein, è possibile ottenere specifici reagenti immunologici (anticorpi monoclonali, MAB) che riconoscono gli antigeni associati al tumore. Un anticorpo monoclonale di questo tipo, C-50 MAB, è stato ottenuto dopo l'immunizzazione utilizzando una linea cellulare di adenocarcinoma colorettale, Colo 205. Il C-50 MAB riconosce due diverse catene di carboidrati, il sialilato di Lewis e il lattotetraosio sialilato finora sconosciuto. Le strutture contenenti CA-50 si trovano principalmente nei tumori gastrointestinali (ad esempio tumori del pancreas, dello stomaco, epatici e del colon-retto) ma anche a volte in altre escrescenze maligne (tumori dell'endometrio). Gli antigeni CA-50 si trovano nella membrana cellulare in una forma legata ai lipidi (come ganglioside) e in una forma legata a una proteina ad alto peso molecolare (come glicoproteina). Gli antigeni CA-50 vengono rilasciati dai tumori nel flusso sanguigno dove possono essere specificamente rilevati mediante tecniche immunologiche basate su C-50 MAB.

CA-50 è normalmente rilevabile solo in basse concentrazioni nel siero di uomini e donne sani. Un leggero aumento delle concentrazioni di CA-50 può talvolta essere osservato in pazienti con disturbi benigni.

Livelli sierici patologicamente elevati di CA-50 si incontrano in presenza di tumori che producono CA-50, ad esempio tumori del pancreas, del tratto gastrointestinale, dell'endometrio e della vescica.

Se si sospetta un disturbo maligno e si osservano livelli elevati di CA-50, si raccomandano ulteriori test. L'indicazione principale per la determinazione di CA-50 è il follow-up dei pazienti tumorali, cioè il monitoraggio dell'efficacia del trattamento e il monitoraggio del decorso della malattia nel tempo e la determinazione della sua prognosi.

I disturbi benigni possono portare a valori di CA-50 al di sopra dell'intervallo normale; ciò si verifica frequentemente, ad esempio, nei casi di pancreatite acuta e cronica, colite ulcerosa, morbo di Crohn, cirrosi epatica ed epatite.

IV.PRINCIPI DEL METODO

Il test in vitro DIAsource CA 50 IRMA dell'antigene CA-50 nel siero (o plasma) umano utilizzando il principio di test "sandwich" in 2 fasi. Si forma un complesso di anticorpi anti-CA-50 (monoclonale, topo) legati alla parete del tubo, CA-50 nel campione e anticorpi anti-CA-50 marcati con ^{125}I (monoclonale, topo). Dopo la reazione, la frazione tracciante libera viene rimossa mediante aspirazione e lavaggio.

La quantità di tracciante specificamente legata alle provette rivestite viene misurata con un contatore gamma.

La valutazione dei risultati forniti da campioni sconosciuti viene eseguita leggendo da una curva standard costruita in condizioni identiche.

V.REAGENTI FORNITI

Reagenti	96 test Corredo	Ricostituzione
Tubi rivestiti con anti CA50 (anticorpi monoclonali di topo)	2 x 48	Pronto all'uso
Ab ^{125}I	1 flaconcino 22 ml 344 Kbq	Pronto all'uso
Anti-CA 50 ^{125}I (anticorpi monoclonali di topo) in tampone con immunoglobuline di topo non specifiche, albumina sierica bovina, azide di sodio, topo e colorante rosso .		
CAL 0	1 flaconcino 0,5 ml liquido	Pronto all'uso
Calibratore zero in tampone e azide di sodio		
CAL N	6 flaconcini 0,5 ml liquido	Pronto all'uso
Calibratori 1-6:antigene CA 50 umano in siero umano, tampone e azide di sodio. (vedere il valore esatto sulle etichette dei flaconcini)		
CONTROL N	2 flaconcini 0,5 ml liquido	Pronto all'uso
Controllo: antigene CA 50 umano nel siero umano e azide di sodio. (vedere il valore esatto sull'etichetta del flaconcino)		
BUFFER	1 flaconcino 25 ml liquido	Pronto all'uso
Tampone di incubazione con albumina sierica bovina, immunoglobuline bovine, colorante blu e azide di sodio.		
WASH SOLN CONC	1 flaconcino 50 ml	Diluire 25x con acqua distillata (utilizzare un agitatore magnetico).
Soluzione di lavaggio (tampone fosfato)		

VI. FORNITURE NON FORNITE

Il seguente materiale è richiesto ma non fornito nel kit:

- Acqua distillata
- Micropipette di precisione o simili, per la consegna di: 50 μl e 200 μl (si raccomanda l'uso di pipette accurate con punte di plastica monouso).
- Tubi di plastica usa e getta
- Miscelatore Vortex
- Agitatore magnetico
- Shaker per tubi: orizzontale circolare (300 rpm)
- Siringa automatica da 5 ml (tipo Cornwall) per il lavaggio
- Sistema di aspirazione (opzionale)
- Qualsiasi contatore gamma in grado di misurare iodio 125 può essere usato (resa minima 70%).

VII.PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Soluzione di lavaggio per la seduta: preparare un volume adeguato di soluzione di lavaggio aggiungendo 24 volumi di acqua distillata a 1 volume di soluzione di lavaggio (25x). Utilizzare un agitatore magnetico per omogeneizzare. Scartare la soluzione inutilizzata alla fine della giornata.

VIII.CONSERVAZIONE E SCADENZA DEI REAGENTI

Prima dell'apertura, tutti i componenti del kit sono stabili fino alla data di scadenza, indicata sull'etichetta del flaconcino, se mantenuti a 2-8°C.

La soluzione di lavaggio appena preparata deve essere utilizzata lo stesso giorno.

Dopo il suo primo utilizzo, il tracciante è stabile fino alla data di scadenza, se conservato nel flaconcino originale ben chiuso a 2-8°C.

Alterazioni nell'aspetto fisico dei reagenti del kit possono indicare instabilità o deterioramento.

IX.RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Il test viene eseguito direttamente sul siero. Se il test deve essere effettuato entro 3 giorni dal prelievo del campione, i campioni di siero possono essere conservati a 2-8 °C.

In caso contrario, devono essere suddivisi in aliquote che devono essere conservate congelate (-20°C).

Evitare di congelare nuovamente un campione dopo lo scongelamento. Dopo lo scongelamento o la rimozione dal frigorifero, agitare bene i campioni.

Diluizioni: Se si sospettano livelli elevati di CA-50, le diluizioni devono essere preparate con tampone di incubazione.

X.PROCEDURA

A.Note sulla gestione

Non utilizzare il kit o i componenti oltre la data di scadenza. Non mescolare materiali provenienti da diversi lotti di kit. Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (18-25°C) almeno 30 minuti prima dell'uso.

Per evitare la contaminazione incrociata, utilizzare una punta per pipetta monouso pulita per l'aggiunta di ciascun reagente e campione. Mescolare accuratamente tutti i reagenti e i campioni mediante agitazione delicata o vortice.

Pipette ad alta precisione o apparecchiature di pipettaggio automatizzato migliorano la precisione. Rispetta i tempi di incubazione.

Preparare una curva di calibrazione per ogni esecuzione, non utilizzare i dati delle esecuzioni precedenti.

B.Procedura

- Etichettare i tubi rivestiti in duplice per ogni calibratore, campione e controllo. Per la determinazione dei conteggi totali, etichettare 2 tubi di plastica monouso non rivestiti
- Vortexare brevemente calibratori, campioni, e controllo. Rispettare l'ordine di aggiunta dei reagenti:
- Distribuire 50 μl di calibratore, controllo o campione da analizzare sul fondo delle provette preparate a tale scopo. Utilizzare un nuovo puntale della pipetta per ogni campione.
- Distribuire 200 μl di tampone in ciascun tubo.
- Agitare i tubi su un sistema di agitazione orizzontale (300 giri/min) per 2 ore ad una temperatura compresa tra 18 e 25°C.
- Lavare i tubi rivestiti come segue:
Aspirare il contenuto dei tubi nel modo più completo possibile.
Assicurarsi che il puntale in plastica dell'aspiratore raggiunga il fondo del tubo rivestito per rimuovere tutto il liquido.
Aggiungere 1,0 ml di soluzione di lavaggio a ciascun tubo.
Evitare la formazione di schiuma durante l'aggiunta della soluzione di lavaggio. Ripetere questo step due volte.
- Aggiungere 200 μl di anti-CA 50 ^{125}I a tutti i tubi.
- Agitare i tubi su un sistema di agitazione orizzontale per 2 ore ad una temperatura compresa tra 18 e 25°C.
- Lavare i tubi rivestiti (eccetto i conteggi totali) come descritto in precedenza.
- Dopo l'ultimo lavaggio, lasciare riposare i tubi per due minuti e aspirare la parte di liquido rimanente.
- Misurare la radioattività rimanente legata ai tubi rivestiti con un contatore gamma per 60 secondi.

XI.CALCOLO DEI RISULTATI

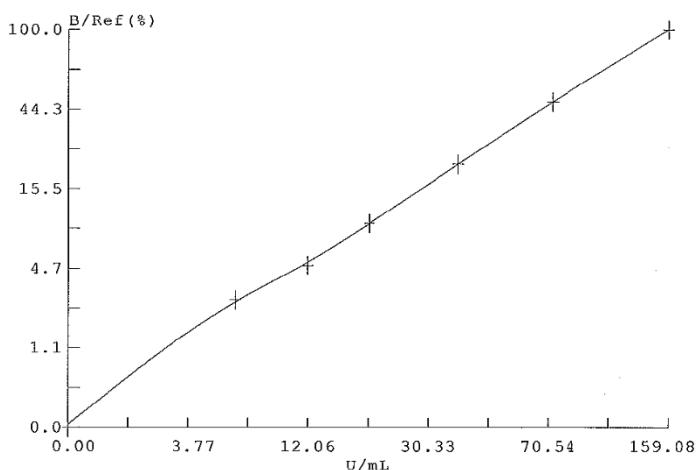
- Calcolare la media delle determinazioni duplicate.
- Plottare il c.p.m. (ordinata) per ogni calibratore contro la concentrazione corrispondente di CA 50 (ascissa) e disegnare una curva di calibrazione, scartare i valori anomali evidenti.
- Leggere la concentrazione per ciascun controllo e campione per interpolazione sulla curva di calibrazione.

4.La riduzione dei dati assistita da computer semplificherà questi calcoli. Se si desidera utilizzare l'elaborazione automatica dei risultati, si consiglia l'utilizzo di una curva con funzione logistica a 4 parametri.

XII. CURVA DI CALIBRAZIONE TIPICA

I seguenti dati sono solo a scopo illustrativo e non devono mai essere utilizzati al posto della curva di calibrazione in tempo reale.

CA 50 IRMA		Cpm
Calibratore	0,0 U/ml 6,3 U/ml 12,1 U/ml 19,6 U/ml 37,5 U/ml 72,7 U/ml 159,1 U/ml 15,3 U/ml 51,1 U/ml	868 2267 3348 5592 11899 25262 51091 4313 17064
Controllo		



XIII. PRESTAZIONI E LIMITAZIONI

A. Limite di rilevazione

Il limite di rilevazione è definito come la più piccola concentrazione rilevabile superiore a 0. È stato valutato come 0. 9 U/ml.

B. Interferenze

La presenza di bilirubina a concentrazioni fino a 0,5 mg/mL, emoglobina fino a 20 mg/mL e trigliceridi fino a 25 mg/mL non hanno alcun effetto sui risultati del test. Il test immunologico è protetto contro gli anticorpi eterofili. Tuttavia, non possiamo garantire che questa protezione sia esaustiva.

C. Precisione

INTRA SAGGIO				INTER SAGGIO			
Siero	Replicati	Concentrazione (U/ml)	CV (%)	Siero	Replicati	Concentrazione (U/ml)	CV (%)
A	20	13.1	6,5	C	13	50.9	6,5
B	20	51.0	4,1	D	13	13,0	6,7

CV: Coefficiente di variazione

D. Accuratezza

TEST DI RECUPERO:

Quantità note di CA-50 sono state aggiunte ai sieri umani. Le percentuali di recupero dai campioni variavano dal 102 al 120%.

PROVA DI DILUIZIONE:

I campioni con alte concentrazioni di CA-50 sono stati diluiti. Le percentuali di recupero ottenute variavano dal 91 al 108%.

E. Specificità

Gli anticorpi monoclonali utilizzati in questo test garantiscono una misurazione specifica dell'antigene CA-50.

XIV. LIMITAZIONI

Non estrapolare i valori del campione oltre l'ultimo calibratore. Diluire i campioni interessati e ripetere il test.

Il kit DIAsource CA-50 consente misurazioni di concentrazioni di CA 50 da 0,2 a 175 U/mL.

XV. CONTROLLO QUALITÀ INTERNO

Se i risultati ottenuti per il Controllo non rientrano nell'intervallo specificato sull'etichetta del flaconcino, i risultati non possono essere utilizzati a meno che non sia stata fornita una spiegazione soddisfacente della discrepanza.

Se lo si desidera, ogni laboratorio può creare i propri pool di campioni di controllo, che devono essere conservati congelati in aliquote. Non congelare e scongelare più di due volte.

I criteri di accettazione per la differenza tra i risultati duplicati dei campioni dovrebbero basarsi su buone pratiche di laboratorio

XVI. INTERVALLI DI RIFERIMENTO

L'intervallo normale per CA-50 è stato determinato utilizzando 57 campioni di siero di uomini e donne sani. La valutazione statistica ha dimostrato una concentrazione di 22,9 U/mL per il 90th percentile e di 23. 5 U/mL per il 95th percentile.

XVII. PRECAUZIONI E AVVERTENZE

Sicurezza

Solo per uso diagnostico *in vitro*.

Questo kit contiene ¹²⁵I (emivita: 60 giorni), emettendo radiazioni ionizzanti X (28 keV) e γ (35,5 keV).

Questo prodotto radioattivo può essere trasferito e utilizzato solo da persone autorizzate; l'acquisto, lo stoccaggio, l'uso e lo scambio di prodotti radioattivi sono soggetti alla legislazione del paese dell'utente finale. In nessun caso il prodotto deve essere somministrato all'uomo o agli animali.

Tutta la manipolazione radioattiva deve essere eseguita in un'area designata, lontano dal passaggio regolare. Un giornale di bordo per la ricezione e lo stoccaggio di materiali radioattivi deve essere conservato in laboratorio. Le apparecchiature di laboratorio e gli oggetti di vetro, che potrebbero essere contaminati da sostanze radioattive, dovrebbero essere separati per prevenire la contaminazione incrociata di diversi radioisotopi.

Eventuali fuoriuscite radioattive devono essere pulite immediatamente secondo le procedure di sicurezza delle radiazioni. I rifiuti radioattivi devono essere smaltiti seguendo le normative locali e le linee guida delle autorità competenti sul laboratorio. L'aderenza alle regole di base della sicurezza delle radiazioni fornisce una protezione adeguata.

I componenti del sangue umano inclusi in questo kit sono stati testati con metodi approvati dall'Europa e/o approvati dalla FDA e sono risultati negativi per HbsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 e 2. Nessun metodo noto può offrire la completa garanzia che i derivati del sangue umano non trasmetteranno epatite, AIDS o altre infezioni. Pertanto, la manipolazione di reagenti, campioni di siero o plasma deve essere conforme alle procedure di sicurezza locali.

Tutti i prodotti animali e i derivati sono stati raccolti da animali sani. I componenti bovini provengono da paesi in cui la BSE non è stata segnalata. Tuttavia, i componenti contenenti sostanze animali dovrebbero essere trattati come potenzialmente infettivi.

Evitare qualsiasi contatto cutaneo con reagenti (azide di sodio come conservante). L'azide in questo kit può reagire con piombo e rame nell'impianto idraulico e in questo modo forma metalli azidi altamente esplosivi. Durante la fase di lavaggio, sciacquare lo scarico con una grande quantità di acqua per evitare l'accumulo di azide.

Non fumare, bere, mangiare o applicare cosmetici nell'area di lavoro. Non pipettare per bocca. Utilizzare indumenti protettivi e guanti monouso.

XVIII. SINTESI DEL PROTOCOLLO

	CONTEGGI TOTALI μl	CALIBRATORI μl	CAMPIONE(I) CONTROLLO μl
Calibratori (0-6) Controllo o campioni Buffer	- - -	50 - 200	- 50 200
Incubazione	2 ore a 18-25°C, con agitazione continua (300 rpm)		
Separazione Soluzione di lavaggio di lavoro Separazione Soluzione di lavaggio di lavoro Separazione	- - - -	Aspirare 1,0 ml Aspirare 1,0 ml Aspirare	
Tracciante	200	200	200
Incubazione	2 ore a 18-25°C, con agitazione continua (300 rpm)		
Separazione Soluzione di lavaggio di lavoro Separazione Soluzione di lavaggio di lavoro	- - - -	Aspirare 1,0 ml Aspirare 1,0 ml Aspirare	
Conteggio	Misurare radioattività dei tubi per 60 secondi		

Altre traduzioni di questa Istruzione per l'uso possono essere scaricate dal nostro sito web: <https://www.diasource-diagnostics.com/>

Diasource Catalogo Nr : OCFM07-CA50	Numero di revisione : 220524
--	------------------------------------

Data revisione: 24/05/2022