



IVD

CE

CA 72-4 IRMA

ELSA-CA72-4

Version : 230123

Date of issue : 23/01/2023

Revision date: 23/01/2023

History

Summary of change:

Current Version:
230123
New logo

CE

en

Read entire protocol before use.

CA 72-4 IRMA

I. INTENDED USE

Immunoradiometric assay kit for the in vitro quantitative measurement of TAG 72 antigen in human serum.

II. GENERAL INFORMATION

- A. Proprietary name : DIAsource CA 72-4 IRMA Kit
- B. Catalog number : ELSA-CA72-4 : 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

TAG 72 is a high molecular weight glycoprotein associated with tumors, and recognized by B 72-3* and CC 49 monoclonal antibodies*.

The B 72-3 antibody was obtained by immunizing a mouse with a metastatic human breast cancer-enriched membrane fraction. In immunohistochemistry, it shows good affinity for gastro-intestinal and human mammary carcinomas, as opposed to the corresponding benign or normal tissues. The CC 49 antibody was generated after immunizing a mouse with TAG 72 previously purified by affinity chromatography. It recognizes a different epitope from that recognized by B 72-3.

This assay system was used in numerous clinical studies, which demonstrated its good level of sensitivity to gastric cancers(70% for the metastatic stages and 20% for the non-metastatic) and its outstanding specificity. The assay also enables the follow-up of gastric cancer cases under treatment or in remission.

IV. PRINCIPLES OF THE METHOD

The DIAsource CA 72-4 IRMA is a solid-phase sandwich immunoradiometric assay. Two monoclonal antibodies were prepared against sterically remote sites on the TAG 72 molecule, the first being coated on the lower and inner surface of the plastic tubes, while the second radiolabelled with iodine 125, is used as a tracer.

TAG 72 molecules present in the calibrators or the samples to be tested are sandwiched between the two antibodies. Excess unbound tracer is easily removed during the procedure's washing step, and the coated tubes retain only the adsorbed antibody/antigen/tracer antibody combination.

The amount of radioactivity bound to the coated tube is proportional to the concentration of TAG 72 present in the sample.

V. REAGENTS PROVIDED

Reagents	96 tests Kit	Reconstitution
Tubes coated with anti CA72-4 (monoclonal antibodies)	2 x 48	Ready for use
Anti-CA 72-4 ^{125}I (monoclonal antibodies) in phosphate buffer with bovine serum albumin, Proclin, mouse immunoglobulins and inert red dye .	1 vial 31 ml 388 kBq	Ready for use
Calibrators 1:5:human TAG 72 antigen in human serum and azide. (see exact value on vial labels)	5 vials 0.8 ml liquid	Ready for use
Control: human TAG 72 antigen in human serum and azide. (see exact value on vial label)	1 vial 0.8 ml liquid	Ready for use
Buffer with bovine serum albumin and azide .	1 vial 20 ml liquid	Ready for use
Buffer with bovine serum albumin and azide .	1 vial 10 ml liquid	Ready for use
Wash solution (Tween 20 - NaCl)	1 vial 50 ml	Dilute 28x with distilled water (use a magnetic stirrer).

Note:

Use the diluent as calibrator 0.
Use the diluent for samples dilutions.

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: 100 μl , 200 μl and 300 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 (400 rpm)
7. 5 ml automatic syringe (Cornwall type) for washing
8. Aspiration system (optional)
9. Any gamma scintillation counter capable of measuring 125 Iodine may be used (minimal yield 70%).

VII. REAGENT PREPARATION

Working Wash solution : Prepare an adequate volume of Working Wash solution by adding 27 volumes of distilled water to 1 volume of Wash Solution (28x). 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 24 hours, the samples may be stored at 2-8°C. Otherwise, they should be divided into aliquots and deep frozen (-20°C) until needed. Avoid subsequent freeze-thaw cycles.

Dilutions

Should elevated CA 72-4 levels be suspected, dilution is performed with the diluent found in the kit.

It is recommended that disposable plastic tubes be used when carrying out dilutions.

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. Dispense 200 μl of Buffer into each coated tube .
4. Add 100 μL of calibrators, control or samples to the corresponding groups of tubes.
5. Gently mix each tube with a Vortex-type mixer.
6. Incubate 4 hours \pm 5 min at room temperature (18-25°C) under continuous shaking (400 rpm).
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 2.0 mL of Working Wash solution to each tube.
 - Avoid foaming during the addition of the Working Wash solution.
 Repeat this process twice.
8. Add 300 μL of anti-CA 72-4 ^{125}I monoclonal antibody to all the tubes.
9. Gently mix each tube with a Vortex-type mixer.
10. Incubate overnight (16-20 h) at 2-6°C.
11. The incubation temperature should not exceed 6°C.
12. Wash the coated tubes (except total counts) as previously described.
13. After the last washing, let the tubes stand upright for two minutes and aspirate the remaining drop of liquid.
13. 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 CA72-4 (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.

CA72-4 IRMA		cpm	B/T (%)
Total count		170106	100
Calibrator			
	0.0 U/ml	763	0.45
	4.3 U/ml	1449	0.85
	11.1 U/ml	2913	1.71
	24.1 U/ml	4935	2.90
	47.9 U/ml	8729	5.13
	102.7 U/ml	16803	9.88

Since no international reference material is available for CA72-4 antigen, DIAsource CA 72-4 IRMA calibrator values are assigned against a set of in-house reference standards.

XIII. PERFORMANCE AND LIMITATIONS

A. Detection limit

The LoB (Limit of blank) was calculated by measuring the blank several times and was calculated as the mean + 1.645 standard deviation of the distribution of the test values . The LoB was calculated to be 0.88 U/ml.

The LoD (Limit of Detection) was calculated as the LoB + 1.645 standard deviation of a low concentration sample tested in 10 different runs .The LoD was calculated to be 1.9 U/ml.

The LoQ (Limit of Quantification) was calculated by testing 5 low values samples, 10 times. The LoQ was calculated to be 3.4 U/ml.

B. Interferences

No interference has been observed :

with haemoglobin up to 2.5 g/l and 5 g/l ,

with triglycerides up to 0.5 and 2.5 g/l ,

with bilirubin non conjugated up to 20 and 150 mg/l

with conjugated bilirubin up to 4 and 20 mg/l

The immunoassay is protected against any human anti-mouse antibody (HAMA) interference by the addition of a protector to the tracer (non-specific mouse immunoglobulins). However, we cannot guarantee that this protection is exhaustive.

C. Precision

INTRA ASSAY				INTER ASSAY			
Serum	Replicate	$\text{} \pm \text{SD}$ (U/ml)	CV (%)	Serum	Replicate	$\text{} \pm \text{SD}$ (U/ml)	CV (%)
A	30	6.2 ± 0.6	8.9	A	10	5.4 ± 0.8	14.3
B	30	17.2 ± 1.2	7.2	B	10	16.2 ± 1.7	10.5

SD : Standard Deviation; CV: Coefficient of variation

D. Accuracy

RECOVERY TEST:

Known quantities of CA 72-4 were added to low human serum samples. The recovery percentages of CA 72-4 in serum samples ranged from 80.3 to 117.1%.

Added CA 72-4 (U/ml)	Recovered CA 72-4 (U/ml)	Recovery (%)
Sample 1		
2.05	2.13	103.9
4.30	4.80	111.6
8.70	7.73	88.9
16.59	14.80	89.2
25.50	24.64	96.6
48.20	45.65	94.7
91.85	78.54	85.5
99.06	109.79	110.8
Sample 2		
2.05	2.40	117.1
4.30	3.98	92.6
8.70	6.99	80.3
16.59	15.47	93.3
25.50	23.19	90.9
48.20	45.67	94.8
91.85	82.14	89.4
99.06	105.87	106.9

DILUTION TEST:

An elevated sample was diluted with the Diluent, with the recovery percentages ranging from 81.7 to 112.5 %.

Dilution factor	Theoretical concentration (U/ml)	Measured concentration (U/ml)	recovery (%)
1	152.1		
0.6	91.2	92.9	101.9
0.5	76.0	68.0	89.4
0.4	60.8	57.5	94.6
0.3	45.6	40.4	88.6
0.2	30.4	24.9	81.7
0.1	15.2	12.5	81.9
0.05	7.6	7.3	96.1
0.01	1.5	1.7	108.6
0.005	0.8	0.9	112.5

Samples were diluted with the Diluent.

XIV. LIMITATIONS

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

XV. INTERNAL QUALITY CONTROL

- If the results obtained for Control 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

Among 120 apparently healthy individuals, 94% of the results were below 4 U/ml, with no difference observed between sex, age and smoking habits.

These results are given as an indication and it is recommended that each laboratory establish its own range of clinical values.

For diagnostic purposes, the results obtained from this assay should always be used in combination with the clinical examination, patient medical history and other findings.

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. BIBLIOGRAPHY

Brandt B, Liffers E, Sasse W, Assmann G. CA 72-4 : the tumor marker for gastric carcinoma. Dans : Klapdor R, ed. Tumor associated antigens, oncogenes, receptors, cytokines in tumor diagnosis and therapy at the beginning of the nineties. Cancer of the breast. State and trends in diagnosis and therapy. München, Bern, Wien, New-York : W. Zuckschwerdt Verlag. 1992:10-2.

Byrne DJ, Browning MCK, Cuschieri A. CA 72-4 : a new tumor marker for gastric cancer. Br J Surg. 1990;77:1010-3.

Colcher D, Paterson A, Sears H, Schlom J. Use of monoclonal antibody b72.3 to detect a circulating tumor-associated glycoprotein (TAG 72) in the serum of colon carcinoma patients. Hybridoma. 1985;4(1):71.

Gero EG, Colcher D, Ferroni P et al. CA 72-4 radioimmunoassay for the detection of the TAG 72 carcinoma-associated antigen in serum of patients. J Clin Lab Anal. 1989;3:360-9.

Guadagni F, Roselli M, Amato T et al. CA 72-4 measurement of tumor-associated glycoprotein 72 (TAG 72) as a serum marker in the management of gastric carcinoma. Cancer Res. 1992;52:1222-7.

Johnson VG, Schlom J, Paterson AJ, Bennet J, Magnani JL, Colcher D. Analysis of human tumor-associated glycoprotein (TAG 72) identified by monoclonal antibody B72.3. Cancer Res. 1986;46:850-7.

Ohuchi N, Gero E, Mori S et al. Clinical evaluation of CA 72-4 immunoradiometric assay for serum TAG 72 antigen in patients with carcinoma. J of Tumor Marker Oncol. 1990;5(1):1-10.

XIX. SUMMARY OF THE PROTOCOL

	TOTAL COUNTS ml	CALIBRATORS ml	SAMPLE(S) CONTROL ml
Buffer Calibrators (0-5) Control or Samples	-	0.2 0.1 -	0.2 - 0.1
Incubation	4 hours at 18-25°C , with continuous shaking(400 rpm)		
Separation Working Wash solution Separation Working Wash solution Separation	- - - -	Aspirate (or decant) 2.0 Aspirate (or decant) 2.0 Aspirate (or decant)	
Tracer	0.3	0.3	0.3
Incubation	20 ± 2 hours at 2-6°C		
Separation Working Wash solution Separation Working Wash solution Separation	- - - -	Aspirate 2.0 Aspirate 2.0 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/>

CE

fr

Lire l'intégralité du protocole avant utilisation.

CA 72-4 IRMA

I. UTILISATION PRÉVUE

Kit de dosage immunoradiométrique pour la mesure quantitative in vitro de l'antigène TAG 72-1 dans le sérum humain.

II. INFORMATIONS GÉNÉRALES

- A. Nom de spécialité : Kit DIAsource CA 72-4 IRMA
- B. Numéro de référence : ELSA-CA72-4 : 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

TAG 72 est une glycoprotéine de haut poids moléculaire associée aux tumeurs, et reconnue par les anticorps monoclonaux B 72-3* et CC 49*.

L'anticorps B 72-3 a été obtenu par immunisation d'une souris avec une fraction membranaire enrichie en cancer du sein humain métastatique. En immunohistochimie, il présente une bonne affinité pour les carcinomes gastro-intestinaux et mammaires humains, par opposition aux tissus bénins ou normaux correspondants. L'anticorps CC 49 a été généré après immunisation d'une souris avec le TAG 72 préalablement purifié par chromatographie d'affinité. Il reconnaît un épitope différent de celui reconnu par le B 72-3.

Ce système de dosage a été utilisé dans de nombreuses études cliniques, qui ont démontré son bon niveau de sensibilité aux cancers gastriques (70 % pour les stades métastatiques et 20 % pour les stades non métastatiques) et sa spécificité exceptionnelle.

Le test permet également le suivi des cas de cancer gastrique sous traitement ou en rémission.

IV. PRINCIPES DE LA MÉTHODE

La trousse DIAsource CA 72-4 IRMA repose sur le principe de la technique « sandwich » sur phase solide. Deux anticorps monoclonaux ont été préparés contre deux sites antigéniques stériquement éloignés l'un de l'autre sur la molécule de TAG 72, le premier est enduit sur la surface inférieure et intérieure des tubes plastiques, le second marqué à l'iode 125 est utilisé comme traceur. Les molécules de TAG 72 présentes dans les calibrateurs ou les échantillons à tester sont prises en « sandwich » entre les deux anticorps. L'excès de traceur étant aisément éliminé par une étape de lavage, il ne reste donc plus sur le tube enduit que le

complexe anticorps adsorbé/antigène/anticorps marqué.

La radioactivité liée au tube enduit est alors proportionnelle à la quantité de TAG 72 initialement présente dans l'échantillon.

V. RÉACTIFS FOURNIS

Réactifs	96 tests Kit	Reconstitution
Tubes enduits d'anti-CA72-4 (anticorps monoclonaux).	2 x 48	Prêt à l'emploi
Ab ¹²⁵ I Anti-CA 72-4 ¹²⁵ I (anticorps monoclonaux) dans un tampon de phosphate avec albumine de sérum bovin, Proclin, immunoglobulines de souris et colorant rouge inerte.	1 flacon 31 ml 388 kBq	Prêt à l'emploi
CAL N Calibrateurs 1-5 : antigène TAG 72 humain dans un sérum humain et azoture. (voir les valeurs exactes sur l'étiquette du flacon)	5 flacons 0,8 ml liquide	Prêt à l'emploi
CONTROL N Contrôle : antigène TAG 72 humain dans un sérum humain et azoture. (voir les valeurs exactes sur l'étiquette du flacon)	1 flacon 0,8 ml liquide	Prêt à l'emploi
BUFFER Tampon avec albumine de sérum bovin et azoture.	1 flacon 20 ml liquide	Prêt à l'emploi
DILUENT Tampon avec albumine de sérum bovin et azoture.	1 flacon 10 ml liquide	Prêt à l'emploi
WASH SOLN CONC Solution de lavage (Tween 20 - NaCl)	1 flacon 50 ml	Diluer 28 fois avec de l'eau distillée (utiliser un mélangeur magnétique).

Remarque :

Utiliser le diluant comme calibrateur 0.

Utiliser le diluant pour les dilutions d'échantillons.

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 100 µl, 200 µl et 300 µl (l'utilisation de pipettes précises avec des embouts en plastique jetables est recommandée)
3. Tubes en plastique jetables
4. Mélangeur vortex
5. Mélangeur magnétique
6. Agitateur de tubes : circulaire horizontal (400 t/m)
7. Seringue automatique de 5 ml (type Cornwall) pour le lavage

8. Système d'aspiration (facultatif)
9. Il est possible d'utiliser tout scintillateur gamma capable de mesurer l'iode 125 (rendement minimal 70 %).

VII. PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Solution de lavage de travail : Préparer un volume adéquat de solution de lavage de travail en ajoutant 27 volumes d'eau distillée à 1 volume de réactif de lavage (28x). Utiliser un mélangeur magnétique pour homogénéiser. Jeter toute solution de lavage 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 test est effectué dans les 24 heures qui suivent le prélèvement, les échantillons seront conservés à 2- 8°C. Dans le cas contraire, ils peuvent être divisés en parties aliquotes qui seront conservées congelées (-20°C) jusqu'à leur utilisation.

Éviter tout cycle ultérieur de congélation-décongélation.

Dilutions

En cas de suspicion de taux élevés de CA 72-4, une dilution est effectuée avec le diluant présent dans la trousse.

Il est recommandé d'utiliser des tubes en plastique jetables pour effectuer les dilutions.

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.

De 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 étalon, échantillon et contrôle. Pour la détermination des comptages totaux, étiqueter 2 tubes en plastique jetables non enduits.
2. Passez brièvement les calibrateurs, échantillons et contrôle à l'agitateur vortex.
3. Respectez l'ordre dans lequel les réactifs doivent être ajoutés :
4. Pipetez 200 µl de tampon dans chaque tube enduit.
4. Ajouter 100 µL de calibrateurs, de contrôle ou d'échantillons aux groupes de tubes correspondants.
5. Mélanger délicatement chaque tube avec un agitateur de type Vortex.
6. Incuber 4 heures ± 5 min à température ambiante (18-25°C) sous agitation continue (400 t/m).

7. 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 2,0 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.
- 8. Ajouter 300 µl d'anticorps monoclonal anti-CA 72-4 ¹²⁵I dans tous les tubes.
- 9. Mélanger délicatement chaque tube avec un agitateur de type Vortex.
- 10. Incuber pendant la nuit (16-20 h) à 2-6°C.

La température d'incubation ne doit pas dépasser 6°C.

11. Laver les tubes enduits (sauf les numérotations totales) comme décrit précédemment.
12. Après le dernier lavage, maintenir les tubes en position verticale pendant deux minutes et aspirer la goutte de liquide restante.
13. 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 CA72-4 (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.

CA72-4 IRMA		cpm	B/T (%)
Comptage total		170106	100
Calibrateur	0,0 U/ml 4,3 U/ml 11,1 U/ml 24,1 U/ml 47,9 U/ml 102,7 U/ml	763 1449 2913 4935 8729 16803	0,45 0,85 1,71 2,90 5,13 9,88

Aucun matériel de référence international n'étant disponible pour l'antigène CA72-4, les valeurs de calibrateur DIAsource CA72-4 IRMA sont attribuées par rapport à un ensemble de normes de référence internes.

XIII. PERFORMANCE ET LIMITES

A. Limite de détection

La limite du blanc (LoB) a été calculée en mesurant le blanc à plusieurs reprises et est égale à la moyenne + 1,645 écart-type de la distribution des valeurs de test. La LoB calculée est égale à 0,88 U/ml.

La limite de détection (LoD) a été calculée comme étant la LoB + 1,645 écart-type d'un échantillon à faible concentration testé dans 10 séries différentes. La LoD ainsi calculée est égale à 1,9 U/ml.

The limite de quantification (LoQ) a été calculée en testant 5 échantillons de faibles valeurs, 10 fois. La LoQ calculée est égale à 3,4 U/ml.

B. Interférence

Aucune interférence n'a été observée :

à l'hémoglobine jusqu'à 2,5 g/l et 5 g/l,
aux triglycérides jusqu'à 0,5 et 2,5 g/l,
à la bilirubine non conjuguée jusqu'à 20 et 150 mg/l,
à la bilirubine conjuguée jusqu'à 4 et 20 mg/l

L'immunodosage est protégé contre les éventuelles interférences de type anticorps humains anti-souris (HAMA) par l'addition d'un protecteur dans le traceur (immunoglobulines de souris non spécifiques). Cependant, nous ne pouvons pas garantir que cette protection est exhaustive.

C. Précision

INTRA-ESSAI				INTER-ESSAI			
Sérum	Réplicat	$\langle X \rangle \pm E-T$ (U/ml)	CV (%)	Sérum	Réplicat	$\langle X \rangle \pm E-T$ (U/ml)	CV (%)
A	30	6,2 ± 0,6	8,9	A	10	5,4 ± 0,8	14,3
B	30	17,2 ± 1,2	7,2	B	10	16,2 ± 1,7	10,5

E-T : écart-type ; CV : coefficient de variation

D. Exactitude

TEST DE RÉCUPÉRATION :

Des quantités connues de CA 72-4 ont été ajoutées à des échantillons de sérum humain de faible concentration. Les pourcentages de récupération de CA 72-4 dans les échantillons de sérum étaient compris entre 80,3 et 117,1 %.

CA 72-4 ajoutée (U/ml)	CA 72-4 récupérée (U/ml)	Récupération (%)
Échantillon 1		
2,05	2,13	103,9
4,30	4,80	111,6
8,70	7,73	88,9
16,59	14,80	89,2
25,50	24,64	96,6
48,20	45,65	94,7
91,85	78,54	85,5
99,06	109,79	110,8
Échantillon 2		
2,05	2,40	117,1
4,30	3,98	92,6
8,70	6,99	80,3
16,59	15,47	93,3
25,50	23,19	90,9
48,20	45,67	94,8
91,85	82,14	89,4
99,06	105,87	106,9

TEST DE DILUTION

Un échantillon élevé a été dilué avec le Diluant (calibrateur 0), les pourcentages de récupération étant compris entre 81,7 et 112,5 %.

Facteur de dilution	Concentration théorique (U/ml)	Concentration mesurée (U/ml)	récupération (%)
1	152,1		
0,6	91,2	92,9	101,9
0,5	76,0	68,0	89,4
0,4	60,8	57,5	94,6
0,3	45,6	40,4	88,6
0,2	30,4	24,9	81,7
0,1	15,2	12,5	81,9
0,05	7,6	7,3	96,1
0,01	1,5	1,7	108,6
0,005	0,8	0,9	112,5

Les échantillons ont été dilués avec le Diluant.

XIV. LIMITATIONS

- Des échantillons de patients qui ont reçu des préparations à base d'anticorps monoclonaux de souris à des fins de diagnostic ou de thérapie peuvent contenir des anticorps humains anti-souris (HAMA). De tels échantillons peuvent présenter de valeurs faussement élevées ou réduites quand ils sont

testés avec des trousse de dosage qui font appel à des anticorps monoclonaux de souris.

- Des anticorps hétérophiles dans le sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines du réactif, interférant ainsi avec les immunodosages *in vitro*.

Les patients fréquemment exposés à des animaux ou à des produits de sérum animal peuvent être sujets cette interférence et des valeurs anormales peuvent être observées en cas de présence d'anticorps hétérophiles. Il est recommandé d'évaluer soigneusement le résultat de patients soupçonnés de présenter ces anticorps.

Si les résultats ne sont pas cohérents avec d'autres observations cliniques, des informations complémentaires sont indispensables avant tout diagnostic.

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 échantillons de contrôle, qui doivent être conservés au congélateur sous forme d'ali quotes. Ne pas congerler/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

Parmi 120 individus apparemment en bonne santé, 94 % des résultats étaient inférieurs à 4 U/ml sans écart observé en termes de sexe, d'âge ou d'habitudes tabagiques.

Ces résultats sont donnés à titre purement indicatif et il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre plage de valeurs cliniques.

À des fins de diagnostic, les résultats obtenus à partir de ce dosage devraient toujours être utilisés en combinaison avec l'examen clinique, les antécédents médicaux du patient et d'autres éléments.

XVII. PRÉCAUTIONS ET MISES EN GARDE

Sécurité

Pour diagnostic *in vitro* uniquement.

Cette trousse contient de l' I^{125} I (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 susceptible 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 élémentaire de sûreté radiologique permet 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 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 ce kit 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. BIBLIOGRAPHIE

Brandt B, Liffers E, Sasse W, Assmann G. CA 72-4 : the tumor marker for gastric carcinoma. Dans : Klapdor R, ed. Tumor associated antigens, oncogenes, receptors, cytokines in tumor diagnosis and therapy at the beginning of the nineties. Cancer of the breast. State and trends in diagnosis and therapy. München, Bern, Wien, New-York : W. Zuckschwerdt Verlag. 1992:10-2.

Byrne DJ, Browning MCK, Cuschieri A. CA 72-4 : a new tumor marker for gastric cancer. Br J Surg. 1990 77 1010 3

Colcher D, Paterson A, Sears H, Schlom J. Use of monoclonal antibody b72.3 to detect a circulating tumor-associated glycoprotein (TAG 72) in the serum of colon carcinoma patients. Hybridoma.1985;4(1):71.

Gero EG, Colcher D, Ferroni P et al. CA 72-4 radioimmunoassay for the detection of the TAG 72 carcinoma-associated antigen in serum of patients. J Clin Lab Anal.1989;3:360-9.

Guadagni F, Roselli M, Amato T et al. CA 72-4 measurement of tumor-associated glycoprotein 72 (TAG 72) as a serum marker in the management of gastric carcinoma. Cancer Res. 1992 52 1222 7

Johnson VG, Schlom J, Paterson AJ, Bennet J, Magnani JL, Colcher D. Analysis of human tumor-associated glycoprotein (TAG 72) identified by monoclonal antibody B72.3. Cancer Res. 1986 46 850 7

Ohuchi N, Gero E, Mori S et al. Clinical evaluation of CA 72-4 immunoradiometric assay for serum TAG 72 antigen in patients with carcinoma. J of Tumor Marker Oncol. 1990;5(1):1-10.

XIX. RÉSUMÉ DU PROTOCOLE

	COMPTAGE GES TOTAU X ml	ÉTALONS ml	ÉCHANTILLO N(S) CONTRÔLE ml
Tampon Calibrateurs (0-5) Contrôle ou Échantillons	-	0,2 0,1 -	0,2 - 0,1
Incubation	4 heures entre 18 et 25 °C en agitant en continu (à 400 t/m)		
Séparation Solution de lavage de travail Séparation Solution de lavage de travail Séparation	- - - -	Aspirer (ou décanter) 2,0 Aspirer (ou décanter) 2,0 Aspirer (ou décanter)	
Traceur	0,3	0,3	0,3
Incubation	20 ± 2 heures à 2-6°C		
Séparation Solution de lavage de travail Séparation Solution de lavage de travail	- - - -	Aspirer 2,0 Aspirer 2,0 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/>



nl

Neem het volledige protocol door voor gebruik.

CA 72-4 IRMA

I. BEOOGD GEBRUIK

Immunoradiometrische assaykit voor de in vitro kwantitatieve meting van TAG 72-antigeen in menselijk serum.

II. ALGEMENE INFORMATIE

A. Handelsnaam: DIAsource CA 72-4 IRMA Kit

B. Catalogusnummer: ELSA-CA72-4 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

TAG 72 is een glycoproteïne met een hoog molecuulair gewicht die wordt geassocieerd met tumoren, en die wordt herkend door de monoklonale antilichamen B 72-3* en CC 49*.

Antilichaam B 72-3 is verworven door immunisatie van een muis met een membraanfractie die verrijkt is met menselijke borstkanker in metastase. In immuunhistochemie toont dit antilichaam een duidelijke affiniteit voor gastro-intestinale carcinomen en menselijke borstcarcinomen, en niet voor de bijbehorende goedaardige of normale weefsels. Antilichaam CC 49 is verworven door immunisatie van een muis met TAG 72, dat vooraf was gezuiwerd middels affinitetschromatografie. Het herkent een ander epitoot dan het epitoot dat door B 72-3 wordt herkend.

Dit assaysysteem is in meerdere klinische studies gebruikt. Daarbij is gebleken dat het een goed gevoeligheidsniveau heeft voor maagkancers (70% voor de metastatische fasen en 20% voor de niet-metastatische fase) en zeer specifiek is.

De assay maakt het ook mogelijk maagkankergevallen op te volgen die in behandeling of in remissie zijn.

IV. PRINCIPES VAN DE METHODE

De DIAsource CA 72-4 IRMA is een immunoradiometrische test volgens de 'sandwich'-methode in vaste fase. Twee monoklonale antilichamen worden voorbereid voor sterisch aangelegde locaties op de TAG 72-molecule, waarbij de eerste op de onderste en binnenste oppervlakte van de plastic buisjes wordt gecoat, terwijl de tweede radioactief wordt gemerkt met jodium-125 en als tracer wordt gebruikt.

TAG 72-moleculen die aanwezig zijn in de kalibratoren of de te testen stalen worden tussen de twee antilichamen ingeklemd. Overtollige niet-gebonden tracer wordt eenvoudig verwijderd tijdens de spoelstap van de procedure, en de gecoate buisjes houden alleen de geadsorbeerde combinatie van antilichaam/antigeen/tracer-antilichaam vast.

De hoeveelheid radioactiviteit die aan het gecoate buisje is gebonden, staat in verhouding tot de concentratie TAG 72 die in het staal aanwezig is.

V. GELEVERDE REAGENTIA

Reagentia	96 tests Kit	Reconstitutie
	2 x 48	Klaar voor gebruik
	1 ampul 31 ml 388 kBq	Klaar voor gebruik
Anti-CA 72-4 ^{125}I (monoklonale antilichamen) in fosfaatbuffer met boven serumalbumine, ProClin, immunoglobulinen uit muizen en inerte rode kleurstof.		
	5 ampullen 0,8 ml vloeistof	Klaar voor gebruik
Kalibratoren 1-5: menselijk TAG 72-antigeen in menselijk serum en azide. (Zie exacte waarde op de labels van de ampullen)		
	1 ampul 0,8 ml vloeistof	Klaar voor gebruik
Controlestaal: menselijk TAG 72-antigeen in menselijk serum en azide. (Zie exacte waarde op het label van de ampul)		
	1 ampul 20 ml vloeistof	Klaar voor gebruik
Buffer met boven serumalbumine en azide.		
	1 ampul 10 ml vloeistof	Klaar voor gebruik
Buffer met boven serumalbumine en azide.		
	1 ampul 50 ml	Verdun 28x met gedistilleerd water (gebruik een magneetroerder).
Wasoplossing (Tween 20 - NaCl)		

Opmerking:

Gebruik de verdunner als kalibrator 0.

Gebruik de verdunner voor staalverdunningen.

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: 100 µl, 200 µl en 300 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 (400 rpm)
7. 5 ml automatische spuit (type Cornwall) voor het spoelen

8. Aanzuigsysteem (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 27 volumes gedistilleerd water toe te voegen aan 1 volume wasoplossing (28x). 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. Als de test binnen 24 uur zal worden uitgevoerd, moeten de stalen bij 2-8°C worden bewaard. Zo niet, dan moeten ze in aliquots worden verdeeld en worden diepgevroren (-20°C) tot ze worden gebruikt.

Stalen na ontdooien niet opnieuw invriezen.

Verdunningen

Indien een vermoeden bestaat van verhoogde CA 72-4-niveaus, wordt verdunt met de verdunner in de kit.

Bij het verdunnen wordt aanbevolen gebruik te maken van plastic buisjes voor eenmalig gebruik.

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.

Hogegeprecisiepipetten 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. Breng 200 µl buffer aan in elk gecoat buisje.
4. Voeg 100 µl kalibratoren, controleslagen of stalen toe aan de bijbehorende groepen buisjes.
5. Mix elk buisje voorzichtig met een mixer van het vortextype.
6. Incubeer 4 uur ± 5 min. bij kamertemperatuur (18-25°C) onder continu schudden (400 rpm).
7. 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 2,0 ml wasoplossing toe aan elk buisje.
 - Vermijd schuimvorming tijdens de toevoeging van de wasoplossing. Herhaal dit proces twee keer.
8. Voeg 300 µl anti-CA 72-4 ^{125}I monoklonaal antilichaam toe aan elk buisje.
9. Mix elk buisje voorzichtig met een mixer van het vortextype.
10. Incubeer gedurende 16-20 u bij 2-6°C. De incubatietemperatuur mag niet meer dan 6°C bedragen.
11. Spoel de gecoate buisjes (met uitzondering van de totaal tellingen) zoals hierboven beschreven.
12. Laat de buisjes na de laatste spoelbeurt twee minuten rechtop staan en aspireer de resterende druppel vloeistof.

13. Meet de resterende radioactiviteit die aan de gecoate buisjes is gebonden gedurende 60 seconden met een gammascintillatiетeller.

XI. BEREKENING VAN DE RESULTATEN

- Bereken het gemiddelde van de dubbele bepalingen.
- Bepaal de cpm (ordinaat) voor elke kalibrator ten opzichte van de bijbehorende concentratie CA72-4 (absissen) en teken een kalibratiecurve door de kalibratorpunten met elkaar te verbinden, waarbij duidelijke uitschieters worden genegeerd.
- Lees de concentratie voor elk controlestal en elk staal af door interpolatie op de kalibratiecurve.
- Computerondersteunde datareductie maakt deze berekeningen eenvoudiger. Indien wordt gebruikgemaakt van automatische resultaatverwerking, is een logistieke 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.

CA72-4 IRMA		cpm	B/T (%)
Totaaltelling		170106	100
Kalibrator	0,0 U/ml 4,3 U/ml 11,1 U/ml 24,1 U/ml 47,9 U/ml 102,7 U/ml	763 1449 2913 4935 8729 16803	0,45 0,85 1,71 2,90 5,13 9,88

Aangezien geen internationaal referentiemateriaal beschikbaar is voor het CA72-4 antigen, worden de DIAsource CA 72-4 IRMA kalibratorwaarden toegewezen tegen een reeks interne referentiestandaards.

XIII. PRESTATIES EN BEPERKINGEN

A. Detectiegrens

De LoB (Limit of Blank, blancogrens) werd berekend door de blanco meerdere malen te meten en werd berekend als de gemiddelde + 1,645 standaardafwijking van de distributie van de testwaarden. De berekende LoB was 0,88 U/ml.

De LoD (Limit of Detection, detectiegrens) werd berekend als de LoB + 1,645 standaardafwijking van een staal met lage concentratie die in 10 verschillende reeksen werd getest. De berekende LoD was 1,9 U/ml.

De LoQ (Limit of Quantification, kwantificeringsgrens) werd berekend door 5 stalen met lage waarden 10 keer te testen. De berekende LoQ was 3,4 U/ml.

B. Interferenties

Er werd geen interferentie geobserveerd:

met hemoglobine tot 2,5 en 5 g/l,

met triglyceriden tot 0,5 en 2,5 g/l,

met niet-geconjugeerde bilirubine tot 20 en 150 mg/l,

met geconjugeerde bilirubine tot 4 en 20 mg/l.

De immunoassay is beschermd tegen eventuele interferentie door menselijke antilichamen tegen muizen (HAMA) door toevoeging van een beschermingsmiddel aan de tracer (non-specifieke muis-immunoglobulinen). Wij kunnen echter niet garanderen dat deze bescherming volledig is.

C. Precisie

INTRA-ASSAY				INTER-ASSAY			
Serum	Replicatie	$\bar{X} \pm SD$ (U/ml)	VC (%)	Serum	Replicatie	$\bar{X} \pm SD$ (U/ml)	VC (%)
A	30	6,2 ± 0,6	8,9	A	10	5,4 ± 0,8	14,3
B	30	17,2 ± 1,2	7,2	B	10	16,2 ± 1,7	10,5

SA: Standaardafwijking; VC: Variatiecoëfficiënt

D. Nauwkeurigheid

RECUPERATIETEST:

Er werden bekende hoeveelheden CA 72-4 aan stalen met een laag menselijk serum toegevoegd. De recuperatiepercentages van CA 72-4 in de serumstalen lagen tussen 80,3 en 117,1%.

Toegevoegde CA 72-4 (U/ml)	Gerecupereerde CA 72-4 (U/ml)	Recuperatie (%)
Staal 1		
2,05	2,13	103,9
4,30	4,80	111,6
8,70	7,73	88,9
16,59	14,80	89,2
25,50	24,64	96,6
48,20	45,65	94,7
91,85	78,54	85,5
99,06	109,79	110,8
Staal 2		
2,05	2,40	117,1
4,30	3,98	92,6
8,70	6,99	80,3
16,59	15,47	93,3
25,50	23,19	90,9
48,20	45,67	94,8
91,85	82,14	89,4
99,06	105,87	106,9

VERDUNNINGSTEST:

Een hoog staal werd verduld met de verdunner, waarbij de recuperatiepercentages tussen 81,7 en 112,5% lagen.

Verdunningsfactor	Theoretische concentratie (U/ml)	Gemeten concentratie (u/ml)	recuperatie (%)
1	152,1		
0,6	91,2	92,9	101,9
0,5	76,0	68,0	89,4
0,4	60,8	57,5	94,6
0,3	45,6	40,4	88,6
0,2	30,4	24,9	81,7
0,1	15,2	12,5	81,9
0,05	7,6	7,3	96,1
0,01	1,5	1,7	108,6
0,005	0,8	0,9	112,5

De stalen werden verduld met de verdunner.

XIV. BEPERKINGEN

- Specimens van patiënten die voor diagnose of behandeling bereidingen van monoklonale antilichamen uit muizen hebben ontvangen, kunnen menselijke antilichamen tegen muizen bevatten (HAMA). Die specimens kunnen vals verhoogde of verlaagde waarden vertonen wanneer ze worden getest met assaykits die gebruikmaken van monoklonale antilichamen uit muizen.

- Heterofiele antilichamen in menselijk serum kunnen reageren met immunoglobulinen in de reagentia, waardoor interferentie met de in vitro immunoassays optreedt.

Bij patiënten die regelmatig aan dieren of dierlijke serumproducten worden blootgesteld, kan deze interferentie optreden en kunnen afwijkende waarden worden geobserveerd in de aanwezigheid van heterofiele antilichamen. Evalueer de resultaten van patiënten die deze antilichamen kunnen hebben zorgvuldig.

Indien de resultaten niet overeenkomen met andere klinische observaties, moet aanvullende informatie worden verzameld alvorens een diagnose wordt gesteld.

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 bewaren 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.

Colcher D, Paterson A, Sears H, Schlam J. Use of monoclonal antibody b72.3 to detect a circulating tumor-associated glycoprotein (TAG 72) in the serum of colon carcinoma patients. Hybridoma. 1985;4(1):71.

Gero EG, Colcher D, Ferroni P et al. CA 72-4 radioimmunoassay for the detection of the TAG 72 carcinoma-associated antigen in serum of patients. J Clin Lab Anal. 1989;3:360-9.

Guadagni F, Roselli M, Amato T et al. CA 72-4 measurement of tumor-associated glycoprotein 72 (TAG 72) as a serum marker in the management of gastric carcinoma. Cancer Res. 1992;52:1222-7.

Johnson VG, Schlam J, Paterson AJ, Bennet J, Magnani JL, Colcher D. Analysis of human tumor-associated glycoprotein (TAG 72) identified by monoclonal antibody B72.3. Cancer Res. 1986;46:850-7.

Ohuchi N, Gero E, Mori S et al. Clinical evaluation of CA 72-4 immunoradiometric assay for serum TAG 72 antigen in patients with carcinoma. J of Tumor Marker Oncol. 1990;5(1):1-10.

XIX. SAMENVATTING VAN HET PROTOCOL

	TOTAAL TELLINGEN ml	KALIBRATOREN ml	STAAL/STALEN CONTROLE ml
Buffer Kalibratoren (0-5) Controlestaal of Stalen	- -	0,2 0,1 -	0,2 - 0,1
Incubatie	4 uur bij 18-25°C, onder continu schudden (400 rpm)		
Separatie Wasoplossing Separatie Wasoplossing Separatie	- - - -	Aspireren (of decanteren) 2,0 Aspireren (of decanteren) 2,0 Aspireren (of decanteren)	
Tracer	0,3	0,3	0,3
Incubatie	20 ± 2 uur bij 2-6°C		
Separatie Wasoplossing Separatie Wasoplossing Separatie	- - - -	Aspireer 2,0 Aspireer 2,0 Aspireer	
Telling	Tel de buisjes gedurende 60 seconden		

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

XVI. REFERENTIE-INTERVALLEN

Onder 120 gezondelijke individuen was 94% van de resultaten lager dan 4 U/ml. Er werd geen verschil geobserveerd op basis van geslacht, leeftijd en rookgedrag.

Deze resultaten worden ter indicatie vermeld. Het is aanbevolen dat elk laboratorium zijn eigen reeks klinische waarden opstelt.

Voor diagnostische doeleinden moeten de resultaten van deze test altijd worden gebruikt in combinatie met een klinisch onderzoek, de medische voorgeschiedenis van de patiënt en andere bevindingen.

XVII. VOORZORGSMAATREGELEN 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 conserveringsmiddel). 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. BIBLIOGRAFIE

Brandt B, Liffers E, Sasse W, Assmann G. CA 72-4: the tumor marker for gastric carcinoma. In: Klapdor R, ed. Tumor associated antigens, oncogenes, receptors, cytokines in tumor diagnosis and therapy at the beginning of the nineties. Cancer of the breast. State and trends in diagnosis and therapy. München, Bern, Wien, New-York: W. Zuckschwerdt Verlag. 1992;10-2.

Byrne DJ, Browning MCK, Cuschieri A. CA 72-4: a new tumor marker for gastric cancer. Br J Surg. 1990;77:1010-3.

CE

de

Vor Gebrauch des Kits lesen Sie bitte diese Packungsbeilage.

CA 72-4 IRMA

I. VERWENDUNGSZWECK

Radioimmunoassay für die quantitative in vitro Bestimmung von Cancer-Antigen 72 (TAG 72) in menschlichem Serum.

II. ALLGEMEINE INFORMATION

- A. Handelsbezeichnung: DIAsource CA 72-4 IRMA Kit
- B. Katalognummer: ELSA-CA72-4: 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

TAG 72 ist ein Glykoprotein mit hohem Molekulargewicht, das mit Tumoren assoziiert ist und von den monoklonalen Antikörpern B 72-3* und CC 49* erkannt wird.

Der Antikörper B 72-3 wurde durch Immunisierung einer Maus mit einer an metastasierendem menschlichem Brustkrebs angereicherten Membranfraktion gewonnen. In der Immunhistochemie zeigt er eine gute Affinität zu gastrointestinalen und menschlichen Mammakarzinomen, im Gegensatz zu den entsprechenden gutartigen oder normalen Geweben. Der Antikörper CC 49 wurde nach Immunisierung einer Maus mit TAG 72 erzeugt, das zuvor durch Affinitätschromatographie gereinigt wurde. Er erkennt ein anderes Epitop als das von B 72-3 erkannte.

Dieses Testsystem wurde in zahlreichen klinischen Studien eingesetzt, die seine hohe Sensitivität für Magenkrebs (70 % für die metastatischen Stadien und 20 % für die nicht-metastatischen) und seine hervorragende Spezifität bewiesen.

Der Test ermöglicht auch die Nachverfolgung von Magenkrebsfällen, die sich in Behandlung oder in Remission befinden.

IV. GRUNDSÄTZE DER METHODE

Der DIAsource CA 72-4 IRMA ist ein Festphasen-Sandwich-Radioimmunoassay. Es wurden zwei monoklonale Antikörper gegen sterisch entfernte Stellen des TAG 72-Moleküls hergestellt, von denen der erste auf die untere und innere Oberfläche der Kunststoffröhrenchen aufgetragen wird, während der zweite mit Jod 125 radiomarkiert ist und als Tracer dient.

TAG 72-Moleküle, die in den Kalibratoren oder den zu untersuchenden Proben vorhanden sind, werden zwischen den beiden Antikörpern eingebettet. Überschüssiger, nicht gebundener Tracer lässt sich während des Waschschritts des Verfahrens leicht entfernen, und die beschichteten Röhrenchen behalten nur die adsorbierte Antikörper/Antigen/Tracer-Antikörper-Kombination zurück. Die Menge an Radioaktivität, die an das beschichtete Röhrenchen gebunden wird, ist proportional zu der Konzentration an TAG 72, die in der Probe vorhanden ist.

V. MITGELIEFERTE REAGENZIEN

Reagenzien	96 Tests Kit	Rekonstitution
Röhrchen mit Anti-CA72-4 beschichtet (monoklonale Antikörper)	2 x 48	Gebrauchsfertig
Ab 125I Anti-CA 72-4 I ¹²⁵ I (monoklonale Antikörper) in Phosphatpuffer mit Rinderserumalbumin, ProClin, Maus-Immunglobulinen und inertem roten Färbemittel.	1 Fläschchen 31 ml 388 kBq	Gebrauchsfertig
CAL N Kalibratoren 1–5: humanes TAG 72 Antigen in menschlichem Serum und Azid. (siehe genauer Wert auf den Fläschchenetiketten)	5 Fläschchen 0,8 ml Flüssigkeit	Gebrauchsfertig
CONTROL N Kontrolle: humanes TAG 72 Antigen in menschlichem Serum und Azid. (siehe genauer Wert auf dem Fläschchenetikett)	1 Fläschchen 0,8 ml Flüssigkeit	Gebrauchsfertig
BUFFER Puffer mit Rinderserumalbumin und Azid.	1 Fläschchen 20 ml Flüssigkeit	Gebrauchsfertig
DILUENT Puffer mit Rinderserumalbumin und Azid.	1 Fläschchen 10 ml Flüssigkeit	Gebrauchsfertig
WASH SOLN CONC Waschlösung (Tween 20 - NaCl)	1 Fläschchen 50 ml	28-fach mit destilliertem Wasser verdünnen (mit einem Magnetrührer).

Anmerkung:

Verwenden Sie das Verdünnungsmittel als Kalibrator 0.
Verwenden Sie das Verdünnungsmittel zur Probenverdünnung.

VI. NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL

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

- Destilliertes Wasser
- Präzisionsmikropipetten oder ähnliches, zur Abgabe von: 100 µl, 200 µl und 300 µl (Verwendung von Präzisionspipetten mit Einwegpipettenspitzen aus Kunststoff wird empfohlen).
- Einweg-Kunststoffröhrenchen
- Vortexmixer
- Magnetrührer
- Röhrchenschüttler: kreisförmig horizontal (400 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 (28-fach) mit 27 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 24 Stunden durchgeführt werden soll, können die Proben bei 2 bis 8 °C gelagert werden. Andernfalls sollten sie in aliquote Mengen aufgeteilt und bis zu ihrer Verwendung eingefroren (-20 °C) gelagert werden.
Wiederholtes Einfrieren und Auftauen vermeiden.

Verdünnungen

Bei Verdacht auf erhöhte CA 72-4-Werte wird die Verdünnung mit dem im Kit enthaltenen Verdünnungsmittel durchgeführt.
Es wird empfohlen, für die Verdünnung Einweg-Kunststoffröhrenchen zu verwenden.

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 Röhrenchen für jeden Kalibrator, jede Probe und jede Kontrolle doppelt beschriften. Zur Bestimmung der Gesamtzählung 2 unbeschichtete Einweg-Kunststoffröhrenchen beschriften.
- Kalibratoren, Proben und Kontrollen kurz auf dem Vortexmixer mischen. Beachten Sie die Reihenfolge, in der die Reagenzien zugegeben werden müssen:
 - 200 µl Puffer in jedes Teströhren geben.
 - 100 µl Kalibratoren, Kontrolle und Proben zu den entsprechenden Gruppen von Röhrenchen hinzufügen.
 - Jedes Röhrenchen vorsichtig mit einem Vortexmixer mischen.
 - 4 Stunden ± 5 Minuten bei Raumtemperatur (18 bis 25 °C) unter kontinuierlichem Schütteln (400 U/min) inkubieren.
 - Waschen Sie die beschichteten Röhrenchen wie folgt:
 - Saugen Sie den Inhalt der Röhren so vollständig wie möglich ab.
 - Achten Sie darauf, dass die Kunststoffspitze des Saugers das untere Ende des beschichteten Röhrens erreicht, um die gesamte Flüssigkeit zu entfernen.
 - Geben Sie 2,0 ml der Arbeitswaschlösung in jedes Röhrenchen.
 - Vermeiden Sie Schaumbildung während der Zugabe der Waschlösung. Wiederholen Sie diesen Vorgang zweimal.
 - Geben Sie 300 µl des monoklonalen Antikörpers Anti-CA 72-4 ¹²⁵I in alle Röhrenchen.
 - Jedes Röhrenchen vorsichtig mit einem Vortexmixer mischen.

10. Über Nacht (16–20 h) bei 2 bis 6 °C inkubieren.
Die Inkubationstemperatur sollte 6 °C nicht überschreiten.
11. Waschen Sie die beschichteten Röhrchen (Ausnahme: Röhrchen für die Gesamtzählung) wie zuvor beschrieben.
12. Nach dem letzten Waschvorgang lassen Sie die Röhrchen zwei Minuten lang aufrecht stehen und saugen Sie den verbleibenden Tropfen Flüssigkeit ab.
13. 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

1. Den Durchschnitt aus den Doppelbestimmungen berechnen.
2. 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 Kalibrierpunkte, wobei die offensichtlichen „Ausreißer“ ausgeschlossen werden.
3. Lesen Sie die Konzentration für jede Kontrolle und Probe durch Interpolation auf der Kalibrierkurve ab.
4. 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.

CA72-4 IRMA		cpm	B/T (%)
Gesamtzahl		170106	100
Kalibrator	0,0 U/ml 4,3 U/ml 11,1 U/ml 24,1 U/ml 47,9 U/ml 102,7 U/ml	763 1449 2913 4935 8729 16803	0,45 0,85 1,71 2,90 5,13 9,88

Da für CA72-4-Antigen kein internationales Referenzmaterial zur Verfügung steht, werden die DIAsource CA 72-4 IRMA-Kalibratorwerte gegen eine Reihe von hausinternen Referenzstandards zugewiesen.

XIII. LEISTUNGSMERKMALE UND GRENZEN

A. Nachweisgrenze

Die LoB (höchste Leerwertmessung) wurde durch 20-maliges Messen des Leerwerts berechnet und als die mittleren +1,645 Standardabweichungen der Verteilung der Testwerte ermittelt. Die LoB wurde mit 0,88 U/ml berechnet.

Die LoD (Detektionschwelle) wurde als die LoB +1,645 Standardabweichungen einer Probe mit niedriger Konzentration berechnet, die in 10 verschiedenen Durchläufen getestet wurde. Die LoD wurde mit 1,9 U/ml berechnet.

Die LoQ (Quantifizierungsschwelle) wurde berechnet, indem 5 Proben von geringem Wert 10 Mal getestet wurden. Die LoD wurde mit 3,4 U/ml berechnet.

B. Interferenzen

Es wurden keine Interferenzen beobachtet:
mit Hämoglobin bis zu 2,5 g/l und 5 g/l,
mit Triglyceriden bis zu 0,5 g/l und 2,5 g/l,
mit unkonjugiertem Bilirubin bis zu 20 mg/l und 150 mg/l
mit konjugiertem Bilirubin bis zu 4 mg/l und 20 mg/l

Der Immunoassay ist durch Zugabe eines Protektors zum Tracer (unspezifische Maus-Immunglobuline) gegen jegliche Interferenz mit humanen Anti-Maus-Antikörpern (HAMA) geschützt. Wir können jedoch nicht garantieren, dass dieser Schutz vollständig ist.

C. Präzision

INTRA-ASSAY				INTER-ASSAY			
Serum	Replikat	$\text{\bar{x}} \pm \text{SD}$ (U/ml)	CV (%)	Serum	Replikat	$\text{\bar{x}} \pm \text{SD}$ (U/ml)	CV (%)
A	30	$6,2 \pm 0,6$	8,9	A	10	$5,4 \pm 0,8$	14,3
B	30	$17,2 \pm 1,2$	7,2	B	10	$16,2 \pm 1,7$	10,5

SD: Standardabweichung; CV: Variationskoeffizient

D. Genauigkeit

WIEDERFINDUNGSTEST:

Menschlichen Serumproben wurden bekannte Mengen von 72-4 zugesetzt. Die Wiederfindungsraten von CA 72-4 in Serumproben reichten von 80,3 % bis 117,1 %.

Zugegebenes CA 72-4 (U/ml)	Wiedergefundenes CA 72-4 (U/ml)	Wiederfindung (%)
Probe 1		
2,05	2,13	103,9
4,30	4,80	111,6
8,70	7,73	88,9
16,59	14,80	89,2
25,50	24,64	96,6
48,20	45,65	94,7
91,85	78,54	85,5
99,06	109,79	110,8
Probe 2		
2,05	2,40	117,1
4,30	3,98	92,6
8,70	6,99	80,3
16,59	15,47	93,3
25,50	23,19	90,9
48,20	45,67	94,8
91,85	82,14	89,4
99,06	105,87	106,9

VERDÜNNUNGSTEST:

Eine erhöhte Probe wurde mit dem Verdünnungsmittel verdünnt, wobei die Wiederfindungsraten zwischen 81,7 % und 112,5 % lagen.

Verdünnungsfaktor	Theoretische Konzentration (U/ml)	Gemessene Konzentration (U/ml)	Rückgewinnung (%)
1	152,1		
0,6	91,2	92,9	101,9
0,5	76,0	68,0	89,4
0,4	60,8	57,5	94,6
0,3	45,6	40,4	88,6
0,2	30,4	24,9	81,7
0,1	15,2	12,5	81,9
0,05	7,6	7,3	96,1
0,01	1,5	1,7	108,6
0,005	0,8	0,9	112,5

Die Proben wurden dem Verdünnungsmittel verdünnt.

XIV. EINSCHRÄNKUNGEN

- Proben von Patienten, die Aufbereitungen von monoklonalen Maus-Antikörpern zur Diagnose oder Therapie erhalten haben, können humane Anti-Maus-Antikörper (HAMA) enthalten. Solche Proben können entweder falsch-positive oder falsch-negative Werte aufweisen, wenn sie mit Assay-Kits getestet werden, die monoklonale Maus-Antikörper verwenden.

- Heterophile Antikörper in menschlichem Serum können mit Reagenz-Iimmunglobulinen reagieren und so In-vitro-Immunoassays beeinträchtigen. Patienten, die routinemäßig mit Tieren oder tierischen Serumprodukten in Berührung kommen, können für diese Interferenz anfällig sein, und bei Vorhandensein von heterophilen Antikörpern können anomale Werte beobachtet werden. Die Ergebnisse von Patienten, bei denen der Verdacht besteht, dass sie diese Antikörper aufweisen, sollten sorgfältig ausgewertet werden.
- Stimmen die Ergebnisse nicht mit anderen klinischen Beobachtungen überein, sollten vor der Diagnose zusätzliche Informationen eingeholt 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

Bei 120 vermeintlich gesunden Personen lagen 94 % der Ergebnisse unter 4 U/ml, wobei kein Unterschied zwischen Geschlecht, Alter und Rauchgewohnheiten festgestellt wurde.

Diese Ergebnisse werden als Anhaltspunkt angegeben, und es wird empfohlen, dass jedes Labor seinen eigenen Bereich für klinische Werte festlegt.

Für diagnostische Zwecke sollten die Ergebnisse dieses Tests stets in Verbindung mit der klinischen Untersuchung, der Anamnese des Patienten und anderen Befunden herangezogen werden.

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 Abflussröhren reagieren und auf diese Weise hochexplosive Metallazide bilden. Spülen Sie während der Waschschriften 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. LITERATUR

Brandt B, Liffers E, Sasse W, Assmann G. CA 72-4: the tumor marker for gastric carcinoma. Dans: Klapdor R, ed. Tumor associated antigens, oncogenes, receptors, cytokines in tumor diagnosis and therapy at the beginning of the nineties. Cancer of the breast. State and trends in diagnosis and therapy. München, Bern, Wien, New-York: W. Zuckschwerdt Verlag. 1992:10-2.

Byrne DJ, Browning MCK, Cuschieri A. CA 72-4: a new tumor marker for gastric cancer. Br J Surg. 1990;77:1010-3.

Colcher D, Paterson A, Sears H, Schlom J. Use of monoclonal antibody b72.3 to detect a circulating tumor-associated glycoprotein (TAG 72) in the serum of colon carcinoma patients. Hybridoma.1985;4(1):71.

Gero EG, Colcher D, Ferroni P et al. CA 72-4 radioimmunoassay for the detection of the TAG 72 carcinoma-associated antigen in serum of patients. J Clin Lab Anal.1989;3:360-9.

Guadagni F, Roselli M, Amato T et al. CA 72-4 measurement of tumor-associated glycoprotein 72 (TAG 72) as a serum marker in the management of gastric carcinoma. Cancer Res. 1992;52:1222-7.

Johnson VG, Schlom J, Paterson AJ, Bennet J, Magnani JL, Colcher D. Analysis of human tumor-associated glycoprotein (TAG 72) identified by monoclonal antibody B72.3. Cancer Res. 1986;46:850-7.

Ohuchi N, Gero E, Mori S et al. Clinical evaluation of CA 72-4 immunoradiometric assay for serum TAG 72 antigen in patients with carcinoma. J of Tumor Marker Oncol. 1990;5(1):1-10.

XIX. ZUSAMMENFASSUNG DES PROTOKOLLS

	GESAMT ZAHL DER ZÄHLUN GEN ml	KALIBRATOREN ml	PROBE(N) KONTROLLE ml
Puffer Kalibratoren (0-5) Kontrolle oder Proben	-	0,2 0,1 -	0,2 - 0,1
Inkubation	4 Stunden bei 18 bis 25 °C unter ständigem Schütteln (400 U/min)		
Separation Arbeitswaschlösung Separation Arbeitswaschlösung Separation	- - - -	Absaugen (oder abgießen) 2,0 Absaugen (oder abgießen) 2,0 Absaugen (oder abgießen)	
Tracer	0,3	0,3	0,3
Inkubation	20 ± 2 Stunden bei 2 bis 6 °C		
Separation Arbeitswaschlösung Separation Arbeitswaschlösung Separation	- - - -	Absaugen 2,0 Absaugen 2,0 Absaugen	
Zählung	Röhrchen 60 Sekunden lang zählen		

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