



# **CYFRA 21-1 IRMA**

***ELSA-CYFRA***

---

Version : 230123

Date of issue : 23/01/2023

Revision date: 23/01/2023

# History

---

## Summary of change:

<b>Current Version:</b> 230123
New logo

Read entire protocol before use.

## CYFRA 21-1 IRMA

### *I. INTENDED USE*

Immunoradiometric assay kit for the in vitro quantitative measurement of CYFRA 21-1 in human serum.

### *II. GENERAL INFORMATION*

- A. **Proprietary name :** DIAsource CYFRA 21-1 IRMA Kit
- B. **Catalog number :** ELSA-CYFRA : 48 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*

CYFRA 21-1 is a cytokeratin 19 fragment found in serum of cancer patients. Precise recognition of this fragment is made with two monoclonal antibodies (BM 19-21 and KS 19-1)\* which were obtained after immunisation of mice with MCF-7 cells.

Cytokeratin 19 (CK19) is a member of the intermediate filament group of proteins, whose physiological role remains unclear. It is an acid-type cytoplasmic protein, with a molecular weight of 40 000 D, expressed in simple epithelium. On the death of the cell, it is released into the serum in the form of soluble fragments.

In immunohistochemistry, CK19 is found in the cytoplasm of the epithelial tumor cell, including that of bronchial cancers. Preliminary clinical studies of bronchial cancer patients sera have shown that CYFRA 21-1 assay is useful in the diagnosis and follow-up of non-small cell lung carcinoma and particularly of squamous cell carcinoma of the lung.


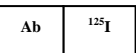

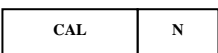
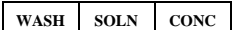

#### IV. PRINCIPLES OF THE METHOD

The DIAsource CYFRA 21-1 IRMA is a solid-phase sandwich immunoradiometric assay. Two monoclonal antibodies were prepared against sterically remote sites on the CYFRA 21-1 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.

CYFRA 21-1 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 amount of CYFRA 21-1 present at the beginning of the assay.

#### V. REAGENTS PROVIDED

Reagents	48 tests Kit	Reconstitution
 Tubes coated with anti CYFRA21-1 (monoclonal antibodies)	1 x 48	Ready for use
 Ab <sup>125</sup> I Anti-CYFRA21-1 <sup>125</sup> I (monoclonal antibodies) in phosphate buffer with bovine serum albumin, azide, mouse immunoglobulins and inert red dye .	1 vial 16 ml 311 kBq	Ready for use
 CAL 0 Calibrator 0 in bovine serum	1 vial lyophil.	Add 4 ml distilled water
 CAL N Calibrators 1-4 :human CYFRA 21-1 in bovine serum (see exact value on vial labels)	4 vials lyophil.	Add 1 ml distilled water
 WASH SOLN CONC Wash solution (TRIS-HCl)	1 vial 10 ml	Dilute 70x with distilled water (use a magnetic stirrer).
 CONTROL N Control :human CYFRA 21-1 in bovine serum( see exact value on vial label)	1 vial lyophil.	Add 1 ml distilled water

**Note:** Use the zero calibrator for sera 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, 300 µl ,1 ml and 4 ml (the use of accurate pipettes with disposable plastic tips is recommended).
3. Disposable plastic tubes
4. Vortex mixer
5. Magnetic stirrer
6. 5 ml automatic syringe (Cornwall type) for washing
7. Aspiration system (optional)
8. Any gamma scintillation counter capable of measuring 125 Iodine may be used (minimal yield 70%).

#### VII. REAGENT PREPARATION

- A. Calibrators :** Reconstitute the calibrator 0 with 4 ml distilled water and the calibrators 1-4 with 1 ml.
- B. Control :** Reconstitute the control with 1 ml distilled water.
- C. Working Wash solution :** Prepare an adequate volume of Working Wash solution by adding 69 volumes of distilled water to 1 volume of Wash

Solution (70x). Use a magnetic stirrer to homogenize. Discard unused Working Wash solution at the end of the day.

#### VIII. STORAGE AND EXPIRATION DATING OF REAGENTS

- Before opening or reconstitution, all kit components are stable until the expiry date, indicated on the vial label, if kept at 2 to 8°C.
- After reconstitution , the calibrator 0, the calibrators 1 - 4 and the control, should be kept at 2-8°C for maximum 5 days or at -20°C for maximum 2 months.
- 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 should be refrigerated at 2-8°C. Otherwise, they should be divided into aliquots and deep frozen (-20°C) until needed.
- Avoid subsequent freeze-thaw cycles.
- Do not use plasma samples.

#### 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 and dispense 100 µl of each into the respective tubes.
3. Dispense 300 µl of anti-CYFRA 21-1 <sup>125</sup>I tracer into each tube, including the uncoated tubes for total counts.
4. Mix each tube gently with a Vortex mixer.
5. Incubate for 20 h ± 2 h at 2-8°C.
6. Aspirate (or decant) the content of each tube (except total counts). Be sure that the plastic tip of the aspirator reaches the bottom of the coated tube in order to remove all the liquid.
7. Wash tubes with 3 ml Working Wash solution (except total counts). Avoid foaming during the addition of the Working Wash solution.
8. Aspirate (or decant) the content of each tube (except total counts).
9. Repeat step 7 and step 8 , twice.
10. After the last washing, let the tubes stand upright for two minutes and aspirate the remaining drop of liquid.
11. Count tubes in a gamma 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 CYFRA 21-1 (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.

CYFRA 21-1 IRMA		cpm	B/T (%)
Total count		241728	100
Calibrator	0.0 ng/ml	54	0.02
	1.4 ng/ml	1047	0.41
	8.4 ng/ml	5497	2.25
	24.6 ng/ml	19168	7.91
	48.7 ng/ml	38754	16.01

Since no international reference material is available for CYFRA antigen, DIASource CYFRA 21-1 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 0.05 ng/ml.

The LoD (Limit of Detection) was calculated as the LoB + 1.645 standard deviation of a low concentration sample tested in 10 different run. The LoD was calculated to be 0.25 ng/ml.

The LoQ (Limit of Quantification) was calculated by testing 5 low values samples, 10 times. The LoQ was calculated to be 0.85 ng/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	<X> ± SD (ng/ml)	CV (%)	Serum	Replicate	<X> ± SD (ng/ml)	CV (%)
A	30	3.1 ± 0.2	6.7	A	10	2.6 ± 0.1	5.6
B	30	27.2 ± 1.6	6.0	B	10	22.8 ± 2.0	9.0

SD : Standard Deviation; CV: Coefficient of variation

#### D. Accuracy

##### RECOVERY TEST:

Known quantities of CYFRA 21-1 were added to a low human serum. The recovery percentages of CYFRA 21-1 in the samples ranged from 85.2 to 102.6%.

Added CYFRA 21-1 (ng/ml)	Recovered CYFRA 21-1 (ng/ml)	Recovery (%)
1.15	0.98	85.2
3.09	3.17	102.6
7.26	6.39	88.0
15.07	13.04	86.5
21.43	19.71	92.0
30.08	29.05	96.6
36.3	36.16	99.6
45.39	40.62	89.5

### DILUTION TEST:

An elevated sample was diluted with zero calibrator, with the recovery percentages ranging from 90.8 to 115.8 %.

Dilution factor	Theoretical concentration (ng/ml)	Measured concentration (ng/ml)	recovery (%)
1	176.9		100
0.4	70.8	70.7	112.9
0.3	53.1	59.9	115.3
0.2	35.4	40.8	115.8
0.1	17.7	20.5	101.8
0.05	8.8	9.0	94.0
0.01	1.8	1.7	90.8
0.005	0.9	0.8	

### 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 196 apparently healthy individuals, 97.4% of the results were below 3.3 ng/ml, with no difference observed between sex, age and smoking habits.

96.1 % of patients with benign pulmonary disease (n=51) had a CYFRA 21-1 level below 3.3 ng/ml.

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 <sup>125</sup>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

Broers JLV, Ramaekers FCS, Klein Rot M, et al. Cytokeratins in different types of human lung cancer as monitored by chain-specific monoclonal antibodies. *Cancer Res.* 1988;48:3221-9.

Fuchs E, Tyner AL, Giudice GJ, Marchuk D, Chaudhury AR, Rosenberg M. The human keratin genes and their differential expression. Dans : Sawyer RH, ed. *The molecular and developmental biology of keratins.* In : Moscona AA, Monroy A, eds. *Current topics in developmental biology.* San Diego: Academic Press;1987:5-34 (Vol 22).

Kasper M, Stosiek P, Typlt H, Karsten U. Histological evaluation of three monoclonal antibodies. 1. Normal tissues. *Eur J Cancer Clin Oncol.* 1987;23(2):137-47.

Karsten U, Papsdorf G, Roloff G et al. Monoclonal anti-cytokeratin antibody from a hybridoma clone generated by electrofusion. *Eur J Cancer Clin Oncol.* 1985;21(6):733-40.

Mc Cormack P. Current surgical approach to non-small-cell-lung cancer. *Oncol.* 1991;5(11):39-46.

Moll R, Franke WW, Shiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell.* 1982;31:11-24.

Pujol JL, Grenier J, Daures JP, Daver A, Pujol H, Michel FB. Serum fragments of cytokeratin subunit 19 measured by CYFRA 21-1 immunoradiometric assay as a marker of lung cancer. *Cancer Res.* 1993;53:1-6.

Schegel R, Banks-Shegel S, Pinkus GS. Immunohistochemical localization of keratin in normal human tissues. *Lab Invest.* 1980;42(1):91-6.

Stasiak PC, Purkis PE, Leigh IM, Lane EB. Keratin 19 : predicted amino acid sequence and broad tissue distribution suggest it evolved from keratinocyte keratins. *J Invest Dermatol.* 1989;92(5):707-16.

Sun TT, Eichner R, Nelson WG, Tseng SCG, Weiss RA, Jarvinen M, Woodcock-Mitchell J. Keratin classes : molecular markers for different types of epithelial differentiation. *J Invest Dermatol.* 1983;81:109s-15s.

### XIX. SUMMARY OF THE PROTOCOL

	TOTAL COUNTS ml	CALIBRATORS ml	SAMPLE(S) CONTROL ml
Calibrators (0-4) Samples, Control Tracer	- - 0.3	0.1 - 0.3	- 0.1 0.3
Incubation	20 ± 2 hours at 2-8°C		
Separation Working Wash solution(ml)	- - -	Aspirate (or decant)  3.0	
Separation Working Wash solution(ml)	- - -	Aspirate (or decant)  3.0	
Separation Working Wash solution	- - -	Aspirate (or decant)  3.0	
Separation	- -	Aspirate (or decant)	
Counting	Count tubes for 60 seconds		

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

Lire l'intégralité du protocole avant utilisation.

## CYFRA 21-1 IRMA

### *I. UTILISATION PRÉVUE*

Kit de dosage immunoradiométrique pour la mesure quantitative in vitro de CYFRA 21-1 dans le sérum humain.

### *II. INFORMATIONS GÉNÉRALES*

- A. **Nom de spécialité :** Kit DIAsource CYFRA 21-1 IRMA
- B. **Numéro de référence :** ELSA-CYFRA : 48 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*

Le CYFRA 21-1 est un fragment de cytokératine 19 présent dans le sérum de patients porteurs de cancers. La reconnaissance spécifique de ce fragment est réalisée par deux anticorps monoclonaux (BM 19-21 et KS 19-1)\* obtenus après immunisation de souris à l'aide de cellules MCF-7.

La cytokératine 19 (CK19) fait partie du groupe des protéines du filament intermédiaire dont le rôle physiologique est mal connu. C'est une protéine cytoplasmique de type acide, de poids moléculaire 40 000 D exprimée dans l'épithélium simple. A la mort cellulaire, elle est relarguée dans le sérum sous forme de fragments solubles.

En immunohistochimie, la CK19 est exprimée dans le cytoplasme des cellules de tumeurs épithéliales, dont les cancers bronchiques. Des études cliniques préliminaires portant sur des sérums de patients atteints de cancers bronchiques ont permis de montrer que le

dosage du CYFRA 21-1 apporte une aide au diagnostic et au suivi des cancers non anaplasiques à petites cellules et en particulier des cancers épidermoïdes de cette localisation.




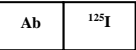
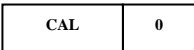

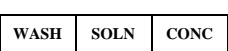

#### IV. PRINCIPES DE LA MÉTHODE

La trousse DIASource CYFRA 21-1 IRMA repose sur le principe de la technique « sandwich » sur phase solide. Deux anticorps monoclonaux ont été préparés contre deux sites antigéniques éloignés l'un de l'autre sur la molécule de CYFRA 21-1, 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 CYFRA 21-1 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 CYFRA 21-1 initialement présente dans l'essai.

#### V. RÉACTIFS FOURNIS

Réactifs	48 tests Kit	Reconstitution
 Tubes enduits d'anti-CYFRA21-1 (anticorps monoclonaux).	1 x 48	Prêt à l'emploi
 Anti-CYFRA21-1 <sup>125I</sup> (anticorps monoclonaux) dans un tampon de phosphate avec albumine de sérum bovin, azoture, immunoglobulines de souris et colorant rouge inerte.	1 flacon 16 ml 311 kBq	Prêt à l'emploi
 Calibrateur 0 dans sérum de bœuf	1 flacon lyophilisés	Ajouter 4 ml d'eau distillée
 Calibrateurs 1-4 : CYFRA 21-1 humain dans sérum de bœuf (voir valeur exacte sur les étiquettes du flacon)	4 flacons lyophilisés	Ajouter 1 ml d'eau distillée
 Solution de lavage (TRIS-HCl)	1 flacon 10 ml	Diluer 70 x avec de l'eau distillée (utiliser un mélangeur magnétique).
 Contrôle : CYFRA 21-1 humain dans sérum de bœuf (voir valeur exacte sur l'étiquette du flacon)	1 flacon lyophilisés	Ajouter 1 ml d'eau distillée

**Remarque :** Utiliser le calibrateur 0 pour les dilutions de sérums.

#### VI. MATÉRIEL NON FOURNI

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

- Eau distillée
- Micropipettes de précision ou matériel similaire permettant la distribution de 100 µl, 300 µl, 500 µl et 4 ml (l'utilisation de pipettes précises avec des embouts en plastique jetables est recommandée)
- Tubes en plastique jetables
- Mélangeur vortex
- Mélangeur magnétique
- Seringue automatique de 5 ml (type Cornwall) pour le lavage
- Système d'aspiration (facultatif)
- Il est possible d'utiliser tout scintillateur gamma capable de mesurer l'iode 125 (rendement minimal 70 %).

#### VII. PRÉPARATION DES RÉACTIFS

- Étalons :** Reconstituer le calibrateur 0 avec 4 ml d'eau distillée et les calibrateurs 1-4 avec 1 ml.
- Contrôle :** Reconstituer le contrôle avec 1 ml d'eau distillée.
- Solution de lavage de travail :** Préparer un volume adéquat de solution de lavage de travail en ajoutant 69 volumes d'eau distillée à 1 volume de réactif de lavage (70x). 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 ou reconstitution, 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.
- Après reconstitution, le calibrateur 0, les calibrateurs 1 - 4 et le contrôle seront conservés à 2-8°C pendant maximum 5 jours ou à -20°C pendant maximum 2 mois.
- 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 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).
- Éviter tout cycle ultérieur de congélation-décongélation.
- Ne pas utiliser d'échantillons de plasma.

#### 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

- 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.
- Agiter brièvement au vortex les étalons, les échantillons, les contrôles et pipeter 100 µl de chacun dans les tubes respectifs.
- Distribuer 300 µl de traceur anti-CYFRA 21-1 <sup>125I</sup> dans chaque tube, y compris les tubes non enduits pour les comptages totaux.
- Mélanger doucement chaque tube avec un agitateur de type Vortex.
- Incuber 20 h ± 2 h à 2-8°C.
- Aspirer (ou décanter) le contenu de chaque tube (hormis comptages totaux). S'assurer que l'extrémité en plastique du dispositif d'aspiration atteigne le fond du tube enduit afin d'extraire la totalité du liquide.
- Laver les tubes avec 3 ml de solution de lavage de travail (hormis comptages totaux). Éviter la formation de mousse pendant l'ajout de la solution de lavage.
- Aspirer (ou décanter) le contenu de chaque tube (hormis comptages totaux).
- Répéter deux fois les étapes 7 et 8.
- Après le dernier lavage, maintenir les tubes en position verticale pendant deux minutes et aspirer la goutte de liquide restante.
- Compter les tubes dans un compteur 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 CYFRA 21-1 (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 logarithmique 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.

CYFRA 21-1 IRMA		cpm	B/T (%)
Comptage total		241728	100
Calibrateur	0,0 ng/ml	54	0,02
	1,4 ng/ml	1047	0,41
	8,4 ng/ml	5497	2,25
	24,6 ng/ml	19168	7,91
	48,7 ng/ml	38754	16,01

Aucun matériel de référence international n'étant disponible pour l'antigène CYFRA, les valeurs de calibrateur DIAsource CYFRA 21-1 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 écarts-types de la distribution des valeurs de test. La LOB calculée est égale à 0,05 ng/ml.

La limite de détection (LOD) a été calculée comme étant la LOB + 1,645 écarts-types d'un échantillon à faible concentration testé dans 10 séries différentes. La LOD ainsi calculée est égale à 0,25 ng/ml.

The limite de quantification (LOQ) a été calculée en testant 5 échantillons de faibles valeurs, 10 fois. La LOB ainsi calculée est égale à 0,85 ng/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	Réplikat	<X> ± SD (ng/ml)	CV (%)	Sérum	Réplikat	<X> ± SD (ng/ml)	CV (%)
A	30	3,1 ± 0,2	6,7	A	10	2,6 ± 0,1	5,6
B	30	27,2 ± 1,6	6,0	B	10	22,8 ± 2,0	9,0

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

## D. Exactitude

### TEST DE RÉCUPÉRATION :

Des quantités connues de CYFRA 21-1 ont été ajoutées à de faibles concentrations de sérum humain. Les pourcentages de récupération de CYFRA 21-1 étaient compris entre 85,2 et 102,6 %.

CYFRA 21-1 ajoutée (ng/ml)	CYFRA 21-1 récupérée (ng/ml)	Récupération (%)
1,15	0,98	85,2
3,09	3,17	102,6
7,26	6,39	88,0
15,07	13,04	86,5
21,43	19,71	92,0
30,08	29,05	96,6
36,3	36,16	99,6
45,39	40,62	89,5

### TEST DE DILUTION

Un échantillon élevé a été dilué avec le calibrateur 0, les pourcentages de recouvrement étant compris entre 90,8 et 115,8 %.

Facteur de dilution	Concentration théorique (ng/ml)	Concentration mesurée (ng/ml)	recouvrement (%)
1	176,9		100
0,4	70,8	70,7	112,9
0,3	53,1	59,9	115,3
0,2	35,4	40,8	115,8
0,1	17,7	20,5	101,8
0,05	8,8	9,0	94,0
0,01	1,8	1,7	90,8
0,005	0,9	0,8	

## 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 trousses 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'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

Parmi 196 individus apparemment en bonne santé, 97,4 % des résultats étaient inférieurs à 3,3 ng/ml sans écart observé en termes de sexe, d'âge ou d'habitudes tabagiques.

96,1 % des patients souffrant de maladies pulmonaires bénignes (n=51) présentaient un niveau de CYFRA 21-1 inférieur à 3,3 ng/ml.

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  $^{125}\text{I}$  (demi-vie : 60 jours), émettant des rayons X (28 keV) et  $\gamma$  (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**

Broers JLV, Ramaekers FCS, Klein Rot M, et al. Cytokeratins in different types of human lung cancer as monitored by chain-specific monoclonal antibodies. *Cancer Res.* 1988 48 3221 9

Fuchs E, Tyner AL, Giudice GJ, Marchuk D, Chaudhury AR, Rosenberg M. The human keratin genes and their differential expression. Dans : Sawyer RH, ed. *The molecular and developmental biology of keratins.* In : Moscona AA, Monroy A, eds. *Current topics in developmental biology.* San Diego : Academic Press;1987:5-34 (Vol 22).

Kasper M, Stosiek P, Typl H, Karsten U. Histological evaluation of three monoclonal antibodies. 1. Normal tissues. *Eur J Cancer Clin Oncol.* 1987 (23)2/137.47

Karsten U, Papsdorf G, Roloff G et al. Monoclonal anti-cytokeratin antibody from a hybridoma clone generated by electrofusion. *Eur J Cancer Clin Oncol.* 1985 (21)6/733.40

Mc Cormack P. Current surgical approach to non-small-cell-lung cancer. *Oncol.* 1991 (5)11/39.46

Moll R, Franke WW, Shiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell.* 1982 31 11 24

Pujol JL, Grenier J, Daures JP, Daver A, Pujol H, Michel FB. Serum fragments of cytokeratin subunit 19 measured by CYFRA 21-1 immunoradiometric assay as a marker of lung cancer. *Cancer Res.* 1993 53 1 6

Schegel R, Banks-Schegel S, Pinkus GS. Immunohistochemical localization of keratin in normal human tissues. *Lab Invest.* 1980 (42)1/91.6

Stasiak PC, Purkis PE, Leigh IM, Lane EB. Keratin 19 : predicted amino acid sequence and broad tissue distribution suggest it evolved from keratinocyte keratins. *J Invest Dermatol.* 1989 (92)5/707.16

Sun TT, Eichner R, Nelson WG, Tseng SCG, Weiss RA, Jarvinen M, Woodcock-Mitchell J. Keratin classes : molecular markers for different types of epithelial differentiation. *J Invest Dermatol.* 1983;81:109s-15s.

**XIX. RÉSUMÉ DU PROTOCOLE**

	COMPTAGES TOTAUX ml	ÉTALONS ml	ÉCHANTILLONS(S) CONTRÔLE ml
Calibrateurs (0-4) Échantillons, contrôle Traceur	- - 0,3	0,1 - 0,3	- 0,1 0,3
Incubation	20 ± 2 heures à 2-8°C		
Séparation Solution de lavage de travail(ml)	- -	Aspirer (ou décanter) 3,0	
Séparation Solution de lavage de travail(ml)	- -	Aspirer (ou décanter) 3,0	
Séparation Solution de lavage de travail	- -	Aspirer (ou décanter) 3,0	
Séparation		Aspirer (ou décanter)	
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/>



Neem het volledige protocol door voor gebruik.

## CYFRA 21-1 IRMA

### *I. BEOOGD GEBRUIK*

Immunoradiometrische assaykit voor de in vitro kwantitatieve meting van CYFRA 21-1 in menselijk serum.

### *II. ALGEMENE INFORMATIE*

- A. Handelsnaam:** DIAsource CYFRA 21-1 IRMA Kit
- B. Catalogusnummer:** ELSA-CYFRA: 48 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*

CYFRA 21-1 is een cytokeratine 19-fragment dat in het serum van kankerpatiënten wordt aangetroffen. Precieze herkenning van dit fragment wordt mogelijk gemaakt door twee monoklonale antilichamen (BM 19-21 en KS 19-1)\*, die werden verkregen na immunisatie van muizen met MCF-7-cellen.

Cytokeratine 19 (CK19) behoort tot de groep van intermediaire filamenteiwitten. De fysiologische rol is nog onbekend. Het is een cytoplasma-eiwit van het zure type met een moleculair gewicht van 40 000 D, uitgedrukt in enkel epitheel. Wanneer de cel sterft, wordt deze in het serum vrijgegeven in de vorm van oplosbare fragmenten.

In de immunohistochemie wordt CK19 aangetroffen in het cytoplasma van de epitheeltumorcel, waaronder die van longkankers. Voorlopige klinische studies van het serum van longkankerpatiënten hebben uitgewezen dat CYFRA 21-1 assays nuttig zijn voor de diagnose en opvolging van niet-kleincellig longcarcinoom en met name plaveiselcelcarcinoom in de long.


#### IV. PRINCIPES VAN DE METHODE

De DAsource CYFRA 21-1 IRMA is een immunoradiometrische test volgens de 'sandwich'-methode in vaste fase. Twee monoklonale antilichamen worden voorbereid voor sterisch afgelegen locaties op de CYFRA 21-1-moleculen, 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.

CYFRA 21-1-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 gecoat buisjes houden alleen de geadsorbeerde combinatie van antilichaam/antigeen/tracer-antilichaam vast.

De hoeveelheid radioactiviteit die aan de gecoat buis is gebonden, staat in verhouding tot de hoeveelheid CYFRA 21-1 die aan het begin van de test aanwezig was.

#### V. GELEVERDE REAGENTIA

Reagentia	48 tests Kit	Reconstitutie			
 Buisjes gecoat met CYFRA21-1 (monoklonale antilichamen)	1 x 48	Klaar voor gebruik			
<table border="1"><tr><td>Ab</td><td><sup>125</sup>I</td></tr></table> Anti-CYFRA21-1 <sup>125</sup> I (monoklonale antilichamen) in fosfaatbuffer met bovien serumalbumine, azide, immunoglobulinen uit muizen en inerte rode kleurstof.	Ab	<sup>125</sup> I	1 ampul 16 ml 311 kBq	Klaar voor gebruik	
Ab	<sup>125</sup> I				
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Kalibrator 0 in bovien serum	CAL	0	1 ampul lyophil.	Voeg 4 ml gedistilleerd water toe	
CAL	0				
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Kalibratoren 1-4: menselijk CYFRA 21-1 in bovien serum (voor exacte waarden zie de etiketten op de ampullen)	CAL	N	4 ampul lyophil.	Voeg 1 ml gedistilleerd water toe	
CAL	N				
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Wasoplossing (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 ampul 10 ml	Verduin 70x met gedistilleerd water (gebruik een magneetroerder).
WASH	SOLN	CONC			
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Controlestaal: menselijk CYFRA 21-1 in bovien serum (voor exacte waarde zie etiket op de ampul)	CONTROL	N	1 ampul lyophil.	Voeg 1 ml gedistilleerd water toe	
CONTROL	N				

**Opmerking:** Gebruik kalibrator 0 voor serumverduinningen.

#### 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, 300 µl, 1 ml en 4 ml (het gebruik van nauwkeurige pipetten met plastic punten voor eenmalig gebruik is aanbevolen).
3. Plastic buisjes voor eenmalig gebruik
4. Vortexmixer
5. Magneetroerder
6. 5 ml automatische spuit (type Cornwall) voor het spoelen
7. Aanzuigsysteem (optioneel)
8. Eender welke gammascintillatieteller die jodium-125 kan meten, kan worden gebruikt (minimumrendement 70%).

#### VII. VOORBEREIDING VAN DE REAGENTIA

- A. **Kalibratoren** : Reconstitueer kalibrator 0 met 4 ml gedistilleerd water en kalibratoren 1-4 met 1 ml.
- B. **Controle** : Reconstitueer het controlestaal met 1 ml gedistilleerd water.
- C. **Wasoplossing** : Bereid een adequaat volume wasoplossing door 69 volumes gedistilleerd water toe te voegen aan 1 volume wasoplossing (70x). 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 of reconstitutie 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.
- Na reconstitutie moeten de kalibrator 0, de kalibratoren 1-4 en de controlestalen gedurende maximaal 5 dagen bij 2-8°C worden bewaard, of maximaal 2 maanden bij -20°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 ontdooiing niet opnieuw invriezen.
- Gebruik geen plasmastalen.

#### 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. Etiketeer de gecoat buisjes in duplicaat voor elke kalibrator, elk staal en elk controlestaal. Etiketeer 2 niet-gecoat plastic buisjes voor eenmalig gebruik om de totaal telling te bepalen.
2. Mix de kalibratoren, de stalen en de controlestalen kort in de vortexmixer en breng 100 µl van elk aan in de respectieve buisjes.
3. Breng 300 µl anti-CYFRA 21-1 <sup>125</sup>I tracer aan in elk buisje, inclusief de niet-gecoat buisjes voor de totaal telling.
4. Mix elke buisje voorzichtig met een vortexmixer.
5. Incubeer gedurende 20 u ± 2 u bij 2-8°C.
6. Aspireer (of decanteer) de inhoud van elk buisje (behalve de totaal tellingen). Zorg dat de plastic punt van de aspirator de bodem van het gecoat buisje raakt, zodat alle vloeistof wordt opgezogen.
7. Spoel de buisjes met 3 ml wasoplossing (behalve de totaal tellingen). Vermijd schuimvorming tijdens de toevoeging van de wasoplossing.
8. Aspireer (of decanteer) de inhoud van elk buisje (behalve de totaal tellingen).
9. Herhaal stap 7 en 8 twee keer.
10. Laat de buisjes na de laatste spoelbeurt twee minuten rechtop staan en aspireer de resterende druppel vloeistof.
11. Tel de buisjes gedurende 60 seconden in de gammateller.

#### 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 CYFRA 21-1 (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.

CYFRA 21-1 IRMA		cpm	B/T (%)
Totaaltelling		241728	100
Kalibrator	0,0 ng/ml	54	0,02
	1,4 ng/ml	1047	0,41
	8,4 ng/ml	5497	2,25
	24,6 ng/ml	19168	7,91
	48,7 ng/ml	38754	16,01

Aangezien geen internationaal referentiemateriaal beschikbaar is voor het CYFRA antigeen, worden de DIAsource CYFRA 21-1 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 0,05 ng/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 0,25 ng/ml.

De LoQ (Limit of Quantification, kwantificeringsgrens) werd berekend door 5 stalen met lage waarden 10 keer te testen. De berekende LoQ was 0,85 ng/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	<X> ± SD (ng/ml)	VC (%)	Serum	Replicatie	<X> ± SD (ng/ml)	VC (%)
A	30	3,1 ± 0,2	6,7	A	10	2,6 ± 0,1	5,6
B	30	27,2 ± 1,6	6,0	B	10	22,8 ± 2,0	9,0

SA: Standaardafwijking; VC: Variatiecoëfficiënt

#### D. Nauwkeurigheid

##### RECUPERATIE-TEST:

Er werden bekende hoeveelheden CYFRA 21-1 aan een laag menselijk serum toegevoegd. De recuperatiepercentages van CYFRA 21-1 in de stalen lagen tussen 85,2 en 102,6%.

Toegevoegde CYFRA 21-1 (ng/ml)	Gerecupereerde CYFRA 21-1 (ng/ml)	Recuperatie (%)
1,15	0,98	85,2
3,09	3,17	102,6
7,26	6,39	88,0
15,07	13,04	86,5
21,43	19,71	92,0
30,08	29,05	96,6
36,3	36,16	99,6
45,39	40,62	89,5

##### VERDUNNINGSTEST:

Een hoog staal werd verdund met kalibrator 0, waarbij de recuperatiepercentages tussen 90,8 en 115,8 % lagen.

Verdunningsfactor	Theoretische concentratie (ng/ml)	Gemetene concentratie (ng/ml)	recuperatie (%)
1	176,9		100
0,4	70,8	70,7	112,9
0,3	53,1	59,9	115,3
0,2	35,4	40,8	115,8
0,1	17,7	20,5	101,8
0,05	8,8	9,0	94,0
0,01	1,8	1,7	90,8
0,005	0,9	0,8	

### 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 bevroren 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

Onder 196 ogenschijnlijk gezonde individuen was 97,4 % van de resultaten lager dan 3,3 ng/ml. Er werd geen verschil geobserveerd op basis van geslacht, leeftijd en rookgedrag.

96,1 % met een goedaardige longaandoening (n=51) had een CYFRA 21-1-niveau onder 3,3 ng/ml.

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 <sup>125</sup>I (halfwaardetijd: 60 dagen) die ioniserende X- (28 keV) en  $\gamma$ -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 plasmaspecimens 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 conserveermiddel). 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**

Broers JLV, Ramaekers FCS, Klein Rot M, et al. Cytokeratins in different types of human lung cancer as monitored by chain-specific monoclonal antibodies. *Cancer Res.* 1988;48:3221-9.

Fuchs E, Tyner AL, Giudice GJ, Marchuk D, Chaudhury AR, Rosenberg M. The human keratin genes and their differential expression. In: Sawyer RH, ed. *The molecular and developmental biology of keratins.*

In : Moscona AA, Monroy A, eds. *Current topics in developmental biology.* San Diego: Academic Press; 1987:5-34 (Vol 22).

Kasper M, Stosiek P, Typl H, Karsten U. Histological evaluation of three monoclonal antibodies. 1. Normal tissues. *Eur J Cancer Clin Oncol.* 1987;23(2):137-47.

Karsten U, Papsdorf G, Roloff G et al. Monoclonal anti-cytokeratin antibody from a hybridoma clone generated by electrofusion. *Eur J Cancer Clin Oncol.* 1985;21(6):733-40.

Mc Cormack P. Current surgical approach to non-small-cell-lung cancer. *Oncol.* 1991;5(11):39-46.

Moll R, Franke WW, Shiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell.* 1982;31:11-24.

Pujol JL, Grenier J, Daures JP, Daver A, Pujol H, Michel FB. Serum fragments of cytokeratin subunit 19 measured by CYFRA 21-1 immunoradiometric assay as a marker of lung cancer. *Cancer Res.* 1993;53:1-6.

Schegel R, Banks-Shegel S, Pinkus GS. Immunohistochemical localization of keratin in normal human tissues.

*Lab Invest.* 1980;42(1):91-6.

Stasiak PC, Purkis PE, Leigh IM, Lane EB. Keratin 19: predicted amino acid sequence and broad tissue distribution suggest it evolved from keratinocyte keratins. *J Invest Dermatol.* 1989;92(5):707-16.

Sun TT, Eichner R, Nelson WG, Tseng SCG, Weiss RA, Jarvinen M, Woodcock-Mitchell J. Keratin classes: molecular markers for different types of epithelial differentiation. *J Invest Dermatol.* 1983;81:109s-15s.



**XIX. SAMENVATTING VAN HET PROTOCOL**

	<b>TOTAAL TELLING EN ml</b>	<b>KALIBRATOREN  ml</b>	<b>STAAL/STAL EN CONTROLE ml</b>
Kalibratoren (0-4) Stalen, Controle Tracer	- - 0,3	0,1 - 0,3	- 0,1 0,3
Incubatie	20 ± 2 uur bij 2-8°C		
Separatie Wasoplossing(ml)	- -	Aspireren (of decanteren)  3,0	
Separatie Wasoplossing(ml)	- -	Aspireren (of decanteren)	
Separatie	-	3,0	
Wasoplossing	-	Aspireren (of decanteren)	
Separatie	-	3,0  Aspireren (of decanteren)	
Telling	Tel de buisjes gedurende 60 seconden		

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



Vor Gebrauch des Kits lesen Sie bitte diese Packungsbeilage.

## CYFRA 21-1 IRMA

### *I. VERWENDUNGSZWECK*

Radioimmunoassay für die quantitative in vitro Bestimmung von CYFRA 21-1 in menschlichem Serum.

### *II. ALLGEMEINE INFORMATION*

- A. Handelsbezeichnung:** DIAsource CYFRA 21-1 IRMA Kit
- B. Katalognummer:** ELSA-CYFRA: 48 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*

CYFRA 21-1 ist ein Cytokeratin-19-Fragment, das im Serum von Krebspatienten vorkommt. Die präzise Erkennung dieses Fragments erfolgt mit zwei monoklonalen Antikörpern (BM 19-21 und KS 19-1)\*, die nach Immunisierung von Mäusen mit MCF7-Zellen gewonnen wurden.


Cytokeratin 19 (CK19) gehört zur Gruppe der Intermediärfilament-Proteine, deren physiologische Rolle noch unklar ist. Es handelt sich um ein säureartiges zytoplasmatisches Protein mit einem Molekulargewicht von 40 000 D, das im einfachen Epithel exprimiert wird. Beim Absterben der Zelle wird es in Form von löslichen Fragmenten in das Serum abgegeben.

In der Immunhistochemie findet sich CK19 im Zytoplasma der epithelialen Tumorzellen, einschließlich derjenigen von Bronchialkarzinomen. Erste klinische Studien mit Seren von Bronchialkrebspatienten haben gezeigt, dass der CYFRA 21-1-Test bei der Diagnose und Verlaufskontrolle von nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen und insbesondere von Plattenepithelkarzinomen der Lunge nützlich ist.

#### IV. GRUNDSÄTZE DER METHODE

Der DIAsource CYFRA 21-1 IRMA ist ein Festphasen-Sandwich-Radioimmunoassay. Es wurden zwei monoklonale Antikörper gegen sterisch entfernte Stellen des CYFRA 21-1-Moleküls hergestellt, von denen der erste auf die untere und innere Oberfläche der Kunststoffröhrchen aufgetragen wird, während der zweite mit Jod 125 radiomarkiert ist und als Tracer dient. CYFRA 21-1-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 Röhrchen behalten nur die adsorbierte Antikörper/Antigen/Tracer-Antikörper-Kombination zurück. Die Menge an Radioaktivität, die an das beschichtete Röhrchen gebunden wird, ist proportional zu der Menge an CYFRA 21-1, die zu Beginn des Tests vorhanden ist.

#### V. MITGELIEFERTE REAGENZIEN

Reagenzien	48 Tests Kit	Rekonstitution			
 Röhrchen mit Anti-CYFRA21-1 beschichtet (monoklonale Antikörper)	1 x 48	<b>Gebrauchsfertig</b>			
<table border="1" data-bbox="135 795 279 851"> <tr> <td>Ab</td> <td><sup>125</sup>I</td> </tr> </table> Anti-CYFRA21-1 <sup>125</sup> I (monoklonale Antikörper) in Phosphatpuffer mit Rinderserumalbumin, Azid, Maus-Immunglobulinen und inertem roten Färbemittel.	Ab	<sup>125</sup> I	1 Fläschchen 16 ml 311 kBq	<b>Gebrauchsfertig</b>	
Ab	<sup>125</sup> I				
<table border="1" data-bbox="135 1019 327 1064"> <tr> <td>CAL</td> <td>0</td> </tr> </table> Kalibrator 0 in Rinderserum	CAL	0	1 Fläschchen lyophilisiert	4 ml destilliertes Wasser <b>hinzufügen</b>	
CAL	0				
<table border="1" data-bbox="135 1153 343 1198"> <tr> <td>CAL</td> <td>N</td> </tr> </table> Kalibratoren 1–4: humanes CYFRA 21-1 in Rinderserum (siehe genauer Wert auf den Fläschchenetiketten)	CAL	N	4 Fläschchen lyophilisiert	1 ml destilliertes Wasser <b>hinzufügen</b>	
CAL	N				
<table border="1" data-bbox="119 1332 343 1366"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> Waschlösung (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 Fläschchen 10 ml	70-fach mit destilliertem Wasser <b>verdünnen</b> (Magnetrührer verwenden).
WASH	SOLN	CONC			
<table border="1" data-bbox="119 1444 319 1489"> <tr> <td>CONTROL</td> <td>N</td> </tr> </table> Kontrolle: humanes CYFRA 21-1 in Rinderserum (siehe genauer Wert auf dem Fläschchenetikett)	CONTROL	N	1 Fläschchen lyophilisiert	1 ml destilliertes Wasser <b>hinzufügen</b>	
CONTROL	N				

**Anmerkung:** Null-Kalibrator für Serienverdünnungen verwenden.

#### VI. NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL

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

1. Destilliertes Wasser
2. Präzisionsmikropipetten oder ähnliches, zur Abgabe von: 100 µl, 300 µl, 1 ml und 4 ml (Verwendung von Präzisionspipetten mit Einwegpipettenspitzen aus Kunststoff wird empfohlen).
3. Einweg-Kunststoffröhrchen
4. Vortexmischer
5. Magnetrührer
6. 5 ml automatische Spritze (Cornwall-Typ) zum Waschen
7. Absaugsystem (optional)
8. Es kann jeder Szintillationszähler zur Untersuchung der Gamma-Spektren, der Jod-125 messen kann, verwendet werden (minimale Ausbeute 70 %).

#### VII. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- A. Kalibratoren:** Den Kalibrator 0 mit 4 ml destilliertem Wasser und die Kalibratoren 1–4 mit 1 ml rekonstituieren.
- B. Kontrolle:** Die Kontrolle mit 1 ml destilliertem Wasser rekonstituieren.
- C. Arbeitswaschlösung:** Ein angemessenes Volumen an Arbeitswaschlösung aus einem Anteil Waschlösung (70-fach) mit 69 Anteilen destilliertem Wasser herstellen. Mit einem Magnetrührer homogenisieren. Nicht verwendete Arbeitswaschlösung nach jedem Arbeitstag entsorgen.

#### VIII. AUFBEWAHRUNG UND VERFALLSDATUM DER HALTBARKEIT DER REAGENZIEN

- Vor dem Öffnen oder Rekonstituieren sind alle Kitkomponenten bei 2 bis 8 °C bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar.
- Nach der Rekonstitution sollten der Kalibrator 0, die Kalibratoren 1–4 und die Kontrolle bei 2 bis 8 °C für maximal 5 Tage oder bei -20 °C für maximal 2 Monate aufbewahrt werden.
- 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 Tagen nach der Probenentnahme durchgeführt werden soll, sollten die Proben bei 2 bis 8 °C gelagert werden. Andernfalls sollten sie bis zu ihrer Verwendung in aliquote Mengen aufgeteilt und eingefroren (-20 °C) werden.
- Wiederholtes Einfrieren und Auftauen vermeiden.
- Keine Plasmaproben 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

1. Beschichtete Röhrchen für jeden Kalibrator, jede Probe und jede Kontrolle doppelt beschriften. Zur Bestimmung der Gesamtzählung 2 unbeschichtete Einweg-Kunststoffröhrchen beschriften.
2. Kalibratoren, Proben und Kontrolle kurz auf dem Vortexmischer mischen und jeweils 100 µl davon in die entsprechenden Röhrchen geben.
3. 300 µl des Anti-CYFRA 21-1<sup>125</sup>I-Tracers in jedes Röhrchen geben, auch in die unbeschichteten Röhrchen für die Gesamtzahl der Zählungen.
4. Jedes Röhrchen vorsichtig mit einem Vortexmischer mischen.
5. 20 h ± 2 h bei 2 bis 8 °C inkubieren.
6. Inhalt jedes Röhrchens (mit Ausnahme der Gesamtzahl der Zählungen) absaugen (oder abgießen). Achten Sie darauf, dass die Kunststoffspitze des Saugers den Boden des beschichteten Röhrchens erreicht, um die gesamte Flüssigkeit zu entfernen.
7. Röhrchen mit 3 ml Arbeitswaschlösung waschen (außer Gesamtzahl der Zählungen). Vermeiden Sie Schaumbildung während der Zugabe der Waschlösung.
8. Inhalt jedes Röhrchens (mit Ausnahme der Gesamtzahl der Zählungen) absaugen (oder abgießen).
9. Wiederholen Sie Schritt 7 und Schritt 8 zweimal.
10. Nach dem letzten Waschvorgang lassen Sie die Röhrchen zwei Minuten lang aufrecht stehen und saugen Sie den verbleibenden Tropfen Flüssigkeit ab.
11. Röhrchen 60 Sekunden lang in einem Gammazähler zählen.

## 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 CYFRA 21-1 (Abszisse) ein und zeichnen Sie eine Kalibrierkurve durch die Kalibrierpunkte, 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.

CYFRA 21-1 IRMA		cpm	B/T (%)
Gesamtzahl		241728	100
Kalibrator	0,0 ng/ml	54	0,02
	1,4 ng/ml	1047	0,41
	8,4 ng/ml	5497	2,25
	24,6 ng/ml	19168	7,91
	48,7 ng/ml	38754	16,01

Da für CYFRA-Antigen kein internationales Referenzmaterial zur Verfügung steht, werden die DIAsource CYFRA 21-1 IRMA -Kalibratorwerte gegen eine Reihe von hausinternen Referenzstandards zugewiesen.

## XIII. LEISTUNGSMERKMALE UND GRENZEN

### A. Nachweisgrenze

Die LoB (höchste Leerwertmessung) wurde durch mehrmaliges Messen des Leerwerts berechnet und als die mittlere + 1,645 Standardabweichung der Verteilung der Testwerte ermittelt. Die LoB wurde mit 0,05 ng/ml berechnet.

Die LoD (Detektionsschwelle) wurde als die LoB + 1,645 Standardabweichung einer Probe mit niedriger Konzentration berechnet, die in 10 verschiedenen Durchläufen getestet wurde. Die LoD wurde mit 0,05 ng/ml berechnet.

Die LoQ (Quantifizierungsschwelle) wurde berechnet, indem 5 Proben von geringem Wert 10 Mal getestet wurden. Die LoQ wurde mit 0,85 ng/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 Protectors 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	Replik	<X> ± SD (ng/ml)	CV (%)	Serum	Replik	<X> ± SD (ng/ml)	CV (%)
A	30	3,1 ± 0,2	6,7	A	10	2,6 ± 0,1	5,6
B	30	27,2 ± 1,6	6,0	B	10	22,8 ± 2,0	9,0

SD: Standardabweichung; CV: Variationskoeffizient

## D. Genauigkeit

### WIEDERFINDUNGSTEST:

Einem niedrigen menschlichen Serum wurden bekannte Mengen von CYFRA 21-1 zugesetzt. Die Wiederfindungsraten von CYFRA 21-1 in den Proben reichten von 81 % bis 102,6 %.

Zugegebenes CYFRA 21-1 (ng/ml)	Wiedergefundenes CYFRA 21-1 (ng/ml)	Wiederfindung (%)
1,15	0,98	85,2
3,09	3,17	102,6
7,26	6,39	88,0
15,07	13,04	86,5
21,43	19,71	92,0
30,08	29,05	96,6
36,3	36,16	99,6
45,39	40,62	89,5

### VERDÜNNUNGSTEST:

Eine erhöhte Probe wurde mit einem Nullkalibrator verdünnt, wobei die Wiederfindungsraten zwischen 90,8 % und 115,8 % lagen.

Verdünnungsfaktor r	Theoretische Konzentration (ng/ml)	Gemessene Konzentration (ng/ml)	Wiederfindung (%)
1	176,9		100
0,4	70,8	70,7	112,9
0,3	53,1	59,9	115,3
0,2	35,4	40,8	115,8
0,1	17,7	20,5	101,8
0,05	8,8	9,0	94,0
0,01	1,8	1,7	90,8
0,005	0,9	0,8	

## 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-Immunglobulinen 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 196 vermeintlich gesunden Personen lagen 97,4 % der Ergebnisse unter 3,3 ng/ml, wobei kein Unterschied zwischen Geschlecht, Alter und Rauchgewohnheiten festgestellt wurde.

Bei 96,1 % der Patienten mit einer benignen Atemwegserkrankung (n = 51) lag der CYFRA 21-1-Wert unter 3,3 ng/ml.

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 <sup>125</sup>I (Halbwertszeit: 60 Tage), das ionisierende X- (28 keV) und  $\gamma$ - (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 Waschschriffe 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

Broers JLV, Ramaekers FCS, Klein Rot M, et al. Cytokeratins in different types of human lung cancer as monitored by chain-specific monoclonal antibodies. *Cancer Res.* 1988;48:3221-9.

Fuchs E, Tyner AL, Giudice GJ, Marchuk D, Chaudhury AR, Rosenberg M. The human keratin genes and their differential expression. Dans: Sawyer RH, ed. *The molecular and developmental biology of keratins.* In: Moscona AA, Monroy A, eds. *Current topics in developmental biology.* San Diego: Academic Press;1987:5-34 (Vol 22).

Kasper M, Stosiek P, Typl H, Karsten U. Histological evaluation of three monoclonal antibodies. I. Normal tissues. *Eur J Cancer Clin Oncol.* 1987;23(2):137-47.

Karsten U, Papsdorf G, Roloff G et al. Monoclonal anti-cytokeratin antibody from a hybridoma clone generated by electrofusion. *Eur J Cancer Clin Oncol.* 1985;21(6):733-40.

Mc Cormack P. Current surgical approach to non-small-cell-lung cancer. *Oncol.* 1991;5(11):39-46.

Moll R, Franke WW, Shiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell.* 1982;31:11-24.

Pujol JL, Grenier J, Daures JP, Daver A, Pujol H, Michel FB. Serum fragments of cytokeratin subunit 19 measured by CYFRA 21-1 immunoradiometric assay as a marker of lung cancer. *Cancer Res.* 1993;53:1-6.

Schegel R, Banks-Schegel S, Pinkus GS. Immunohistochemical localization of keratin in normal human tissues. *Lab Invest.* 1980;42(1):91-6.

Stasiak PC, Purkis PE, Leigh IM, Lane EB. Keratin 19: predicted amino acid sequence and broad tissue distribution suggest it evolved from keratinocyte keratins. *J Invest Dermatol.* 1989;92(5):707-16.

Sun TT, Eichner R, Nelson WG, Tseng SCG, Weiss RA, Jarvinen M, Woodcock-Mitchell J. Keratin classes: molecular markers for different types of epithelial differentiation. *J Invest Dermatol.* 1983;81:109s-15s.

## XIX. ZUSAMMENFASSUNG DES PROTOKOLLS

	<b>GESAMT ZAHL DER ZÄHLUN GEN ml</b>	<b>KALIBRATOREN ml</b>	<b>PROBE(N) KONTROLLE ml</b>
Kalibratoren (0-4) Proben, Kontrolle Tracer	- - 0,3	0,1 - 0,3	- 0,1 0,3
Inkubation	20 ± 2 Stunden bei 2 bis 8 °C		
Separation Arbeitswaschlösung (ml)	- - -	Absaugen (oder abgießen) 3,0	
Separation Arbeitswaschlösung (ml)	- - -	Absaugen (oder abgießen) 3,0	
Separation Arbeitswaschlösung	- -	Absaugen (oder abgießen) 3,0	
Separation	-	Absaugen (oder abgießen)	
Zählung	Röhrchen 60 Sekunden lang zählen		

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