

Product information

Information about other products is available at: www.demeditec.com



User's Manual

Calcitonin IRMA



DE16100



100 tubes



Demeditec Diagnostics GmbH
Lise-Meitner-Strasse 2
24145 Kiel – Germany
www.demeditec.com

Content / Inhaltsverzeichnis

INTRODUCTION	3
PRINCIPLE OF METHOD	3
CONTENTS OF THE KIT	3
MATERIALS, TOOLS AND EQUIPMENT REQUIRED	4
SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE	4
PREPARATION OF REAGENTS, STORAGE	4
ASSAY PROCEDURE	4
CALCULATION OF RESULTS	5
CHARACTERIZATION OF ASSAY	5
LIMITATIONS	6
PROCEDURAL NOTES	6
PRECAUTION	6
STORAGE AND SHELF LIFE	7
SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS	7
EINLEITUNG	8
TESTPRINZIP	8
MITGELIEFERTE REAGENZIEN	8
BENÖTIGTES MATERIAL	9
PROBENSAMMLUNG UND LAGERUNG	9
VORBEREITUNG DER REAGENZIEN UND LAGERUNG	9
TESTDURCHFÜHRUNG	9
BERECHNUNG DER ERGEBNISSE	10
ASSAY CHARAKTERISTIK	11
EINSCHRÄNKUNGEN	12
HINWEISE ZUR DURCHFÜHRUNG	12
WARN- UND SICHERHEITSHINWEISE	12
LAGERUNG UND HALTBARKEIT	12

The ¹²⁵I-hCalcitonin IRMA system provides direct quantitative *in vitro* determination of human calcitonin in human serum. Calcitonin can be assayed in the range of 0-2000 pg/mL using 100 µL serum samples. Each kit contains material sufficient for 100 tests, permitting the construction of one standard curve and assay of 42 unknowns and 2 controls in duplicate.

INTRODUCTION

Calcitonin (MW 3.4 kDa) is primarily secreted by the parafollicular C-cells of the thyroid gland. The mature peptide hormone comprises 32 amino acid residues. Calcitonin exerts its biological effect by acting on its target organs: bone, kidney and the gastrointestinal tract. The physiological role of calcitonin in bone metabolism is not fully understood and is still under investigation. It is well established that abnormally elevated levels of calcitonin are characteristic of thyroid C-cell hyperplasia and medullary thyroid carcinoma (MTC). MTC represents 5-10 % of all thyroid cancer and exists in either familial or sporadic form. The determination of Calcitonin in human serum is recommended for the diagnosis and follow-up of MTC and for diagnosis of preclinical cases of the familial forms of MTC. In the blood the apparent calcitonin-like immunoreactivity is contributed by various calcitonin-related species, including the monomeric, dimeric and polymeric forms, as well as fragments and precursors of the parent hormone.

PRINCIPLE OF METHOD

The technology uses two high affinity monoclonal antibodies in an immunoradiometric assay (IRMA) system.

The ¹²⁵I labelled signal-antibody binds to an epitope of the Calcitonin molecule spatially different from that recognized by the biotin- capture-antibody. The two antibodies react simultaneously with the antigen present in standards or samples, which leads to the formation of a capture antibody - antigen - signal antibody complex, also referred to as a "sandwich".

During the overnight incubation period the immuno-complex is immobilized to the reactive surface of streptavidin coated test tubes. Reaction mixture is then discarded, test tubes are washed exhaustively, and the radioactivity is measured in a gamma counter.

The concentration of antigen is directly proportional to the radioactivity measured in test tubes. By constructing a calibration curve plotting binding values against a series of calibrators containing known amounts of Calcitonin, the unknown concentration of Calcitonin in patient samples can be determined.

CONTENTS OF THE KIT

TRACER **1-125** 1 bottle of TRACER, Ready to use. 11 mL per vial, containing <740 kBq ¹²⁵I-signal and biotin-capture antibody in buffer with red dye and 0.1 % NaN₃.

CAL **0** – **5** **LYO** 6 vials of STANDARDS (S0-S5, 6x1 mL) Freeze-dried, in equine serum with 0.1% NaN₃. The exact concentrations are indicated in the quality certificate enclosed. (Calibrated with WHO international standard 89/620). See *Preparation of reagents*.

CONTROL **1** and **2** **LYO** 2 vials of CONTROL SERA, (CI-CII, 2 x 1 mL). Freeze-dried, in human serum with 0.1% NaN₃. See *Preparation of reagents*. The acceptance ranges of the controls are specified in the quality certificate enclosed.

DIL 1 vial of DILUENT, ready to use. 2 mL per vial, equine serum with 0.1% NaN₃.

SORB **CT** 2 boxes of COATED TUBES, Ready to use. 2x50 reactive test tubes, 12x75 mm, packed in plastic boxes.

WASH **SOLN** **35x** 1 bottle of WASH BUFFER CONCENTRATE (20 mL), containing 0.2% NaN₃. See *Preparation of reagents*.

Quality certificate

Pack leaflet

MATERIALS, TOOLS AND EQUIPMENT REQUIRED

- common laboratory equipment
- 100 µL precision micropipette
- 100 µL repeating pipette
- 2000 µL repeating pipette or dispenser
- plastic foil to cover tubes
- absorbent tissue
- gamma-counter

SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

Serum samples can be prepared according to common procedures used routinely in clinical laboratory practice. Samples can be stored at 2-8°C if the assay is carried out within 24 hours, otherwise aliquots should be prepared and stored deep frozen (-20°C). Frozen samples should be thawed and thoroughly mixed before assaying.

PREPARATION OF REAGENTS, STORAGE

Add the wash buffer concentrate (20 mL) to 700 mL distilled water to obtain 720 mL wash solution. After dilution, store at 2-8°C until expiry date of the kit.

Add 1 mL distilled water to the lyophilized standards and control sera. Mix gently with shaking or vortexing (foaming should be avoided). Ensure that complete dissolution is achieved and allow the solution to equilibrate at room temperature for at least 20 minutes. **For further use, reconstituted standards and controls have to be stored below -20°C until the expiry date of the kit.**

Store the rest of reagents between 2-8°C after opening. At this temperature each reagent is stable until expiry date of the kit.

ASSAY PROCEDURE

(For a quick guide, refer to Table 1.)

1. Equilibrate all reagents and samples to room temperature before use. Homogenize by gentle mixing to avoid foaming.
2. Label coated tubes in duplicate for each standard (S0-S5), control serum (CI, CII) and samples.
3. Pipette 100 µL of standards, control and samples into the properly labelled tubes. Use rack to hold the tubes. Do not touch or scratch the inner bottom of the tubes with pipette tip.
4. Pipette 100 µL of tracer into each tube.
5. Gently vortex all tubes. Seal all tubes with a plastic foil.
6. Incubate tubes for 16-24 hours at room temperature.
7. Add 2,0 mL diluted wash buffer to each tube and decant the supernatant from all tubes by the inversion of the rack. In the upside-down position place the rack on an absorbent paper for 2 minutes.
8. Return the tube-rack to an upright position and repeat Step-7 two times more.
9. Count each tube for at least 60 seconds in a gamma counter.
10. Calculate the Calcitonin concentration of the samples as described in calculation of results or use special software.

Table 1. Assay Protocol, Pipetting Guide (all volumes in microlitres)

Tubes	Total	Standard	Control	Sample
Standard		100		
Control			100	
Sample				100
Tracer	100	100	100	100
Vortex, incubate for 16-24h at room temperature				
Wash buffer		2000	2000	2000
Decant the fluid and blot on filter paper				
Wash buffer		2000	2000	2000
Decant the fluid and blot on filter paper				
Wash buffer		2000	2000	2000
Decant the fluid and blot on filter paper				
Count radioactivity (60 sec/tube)				
Calculate the results				

CALCULATION OF RESULTS

The calculation is illustrated using representative data. The assay data collected should be similar to those shown in Table 2. Calculate the average count per minute (CPM) for each pair of assay tubes. Calculate the normalized percent binding for each standard, control and sample respectively by using the following equation:

$$B/T(\%) = \frac{S_{1-5} / C / M_x (\text{cpm}) - S_0 (\text{cpm})}{T(\text{cpm})} \times 100$$

Using semi-logarithmic graph paper plot B/T (%) for each standard versus the corresponding concentration of calcitonin. Determine the calcitonin concentration of the unknown samples by interpolation from the standard curve. Do not extrapolate values beyond the standard curve range. Out of fitting programs applied for computerized data processing logit-log, or spline fittings can be used. Automated data processing systems are also available.

Table 2. Typical assay data

Tubes	Mean cpm	B/T%
T	303 022	-
S0	182	0.06
S1	1 459	0.42
S2	4 759	1.51
S3	15 195	4.95
S4	46 921	15.4
S5	143 589	47.3
CI	2 804	0.87
CII	9 714	3.15

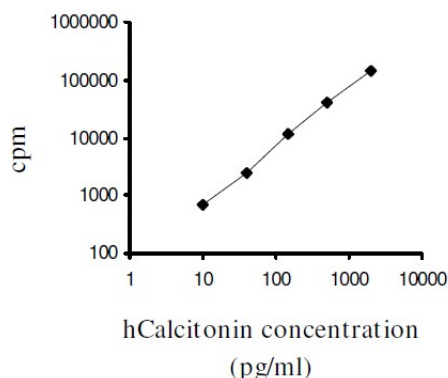


Figure 1: A typical standard curve
(Do not use to calculate unknown samples)

CHARACTERIZATION OF ASSAY

Sensitivity

For the analytical sensitivity, 0.5 pg/mL has been obtained by assaying 20 replicates of the zero standard. The sensitivity has been determined as the concentration corresponding to the sum of the mean cpm and its double standard deviation.

The Limit of Blank (LoB), Limit of Detection (LoD) and Limit of Quantitation (LoQ) were determined consistent with the CLSI guidelines, document EP17.

Limit of Blank (LoB): 0.65 pg/mL

Limit of Detection (LoD): 1.2 pg/mL

Limit of Quantitation (LoQ): 2.0 pg/mL

The functional sensitivity is equal to the Limit of Quantitation (LoQ).

Precision and reproducibility

To determine intra-assay precision 7 samples were assayed in 20 replicates. To determine inter-assay precision 7 samples were measured in 20 independent assays by 3 operators using different kit batches. Values obtained are shown below.

Sample	intra-assay		inter-assay	
	Mean (pg/mL)	CV%	Mean (pg/mL)	CV%
1	0.9	17.9	1.8	21.9
2	23.6	2.7	24.9	5.1
3	25.3	3.2	28.2	6.0
4	161.2	1.6	170.6	6.2
5	180.8	4.4	198.0	6.6
6	348.3	1.7	364.4	6.4
7	782.3	1.4	812.4	6.4

Recovery

Recovery was defined as the measured increase expressed as percent of expected increase upon spiking serum samples with known amount of Calcitonin. The average percent recovery for 4 serum samples spiked with Calcitonin at 3 levels was 101-122 %.

Specificity

The monoclonal antibodies used in this IRMA kit are specific for human Calcitonin. Interference of human Procalcitonin in the assay cannot be detected for Procalcitonin concentrations ≤ 80 ng/mL.

Linearity

Five individual serum samples were serially diluted with human serum with low Calcitonin concentration and measured according to kit protocol. Mean recovery after dilution was 110%. The following equation obtained for measured (Y) versus expected (X) concentration demonstrates the good linearity:

$$Y = 1.1394X - 1.5616 \quad R^2 = 0.9951 \quad n = 20$$

Hook effect

The KIT has no "high-dose hook" effect with Calcitonin levels up to 300 000 pg/mL. Samples expected to have concentrations greater than the highest standard should be diluted with the dilution serum and reassayed. Sequential dilutions 1:10 are recommended.

Expected Values

Based on the measurement of 607 presumably healthy adult serum samples (304 female and 303 male), the expected range of Calcitonin is **0 - 10 pg/mL** (99.8% of samples).

It is recommended that each laboratory determine a reference range for its own patient population.

LIMITATIONS

- The reagents supplied in this kit are optimized to measure Calcitonin levels in human serum.
- Repeated freezing and thawing of reagents supplied in the kit and of specimens must be avoided.
- Hemolyzed and lipemic specimens may give false values and should not be used.
- The results of this assay should be used in conjunction with other pertinent clinical information.
- In some pathological situations Calcitonin could be elevated without any diagnostic or prognostic value, for example in some cases of hypercalcemia, renal insufficiency, hypergastrinemia and acute pancreatitis.

PROCEDURAL NOTES

The non-respect of the instructions in this insert may affect results significantly.

Components from various lots or from kits of different manufacturers should not be mixed or interchanged.

Source of error! Reactive test tubes packed in plastic boxes are not marked individually. Care should be taken of not mixing them with common test tubes. To minimize this risk, never take more tubes than needed out of plastic box and put those left after work back to the box. It is recommended to label assay tubes by a marker pen.

PRECAUTION

Radioactivity

This product contains radioactive material. It is the responsibility of the user to ensure that local regulations or code of practice related to the handling of radioactive materials are satisfied.

Biohazard

Human blood products used in the kit have been obtained from healthy human donors. They were tested individually by using approved methods (EIA, enzyme immunoassay), and were found to be negative for the presence of antibodies to Human Immunodeficiency Virus (Anti-HIV-1/2), Hepatitis-C antibody (anti-HCV), Treponema antibody and Hepatitis-B surface Antigen (HBsAg). Care should always be taken when handling human specimens to be tested with diagnostic kits. Even if the subject has been tested, no method can offer complete assurance that infectious agents are absent. Human blood samples should therefore be handled as potentially infectious materials. All animal products and derivatives have been collected from healthy animals. Nevertheless, components containing animal substances should be treated as potentially infectious materials.












Chemical hazard

Some components contain sodium azide as an antimicrobial agent. Dispose of waste by flushing with copious amount of water to avoid build-up of explosive metallic azides in copper and lead plumbing. The total azide present in each pack is 61 mg.

STORAGE AND SHELF LIFE

Store this product at a temperature of 2-8°C.
Shelf-life: 67 days from availability.

SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS

Symbol	English	Deutsch	Français	Espanol	Italiano
	European Conformity	CE-Konformitätskennzeichnung	Conforme aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consulter les instructions d'utilisation	Consulte las Instrucciones	Consultare le istruzioni per l'uso
	In vitro diagnostic device	In-vitro-Diagnostikum	Usage Diagnostic in vitro	Diagnóstico in vitro	Per uso Diagnostica in vitro
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Seulement dans le cadre de recherches	Sólo para uso en investigación	Solo a scopo di ricerca
	Catalogue number	Katalog-Nr.	Référence	Número de catálogo	No. di Cat.
	Lot. No. / Batch code	Chargen-Nr.	No. de lot	Número de lote	Lotto no
	Contains sufficient for <n> tests/	Ausreichend für "n" Ansätze	Contenu suffisant pour "n" tests	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenuto sufficiente per "n" saggi
	Note warnings and precautions	Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen beachten	Avertissements et mesures de précaution font attention	Tiene en cuenta y advertencias precauciones	Annoti avvisi e le precauzioni
	Storage Temperature	Lagerungstemperatur	Temperature de conservation	Temperatura de conservacion	Temperatura di conservazione
	Expiration Date	Mindesthaltbarkeitsdatum	Date limite d'utilisation	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Legal Manufacturer	Hersteller	Fabricant	Fabricante	Fabbricante
<i>Distributed by</i>	Distributor	Vertreiber	Distributeur	Distribuidor	Distributore

Der Calcitonin IRMA erlaubt die direkte quantitative in vitro Bestimmung von humanem Calcitonin in humanem Serum. Calcitonin kann in einem Bereich von 0-2000 pg/ml unter Verwendung von 100 µl Serum Probe verwendet werden. Jedes Kit enthält ausreichend Material für 100 Tests und erlaubt die Erstellung einer Standardkurve und die Testung von 42 unbekanntem Proben sowie 2 Kontrollen in Duplikat Ansätzen.

EINLEITUNG

Calcitonin (CT) (MW 3.4 kDa) wird vorrangig von parafollikulären C-Zellen der Schilddrüse sekretiert. Das reife Peptidhormon besteht aus 32 Aminosäuren. Die biologischen Effekte von Calcitonin beeinflussen die Zielorgane: Knochen, Niere und Gastrointestinal Trakt. Die genaue physiologische Rolle von Calcitonin im Knochenstoffwechsel ist noch nicht völlig gesichert und wird immer noch untersucht. Es ist allgemein bekannt, dass abnormal erhöhte Calcitonin Werte für eine Schilddrüsen C-Zell Hyperplasie und das medulläre Schilddrüsenkarzinom (MTC) charakteristisch sind. MTC repräsentiert 5-10% aller Schilddrüsen Krebsarten und existiert entweder als familiär oder sporadisch auftretende Form. Die Bestimmung von Calcitonin in humanem Serum wird für die Diagnose und Überwachung von MTC und für die Diagnose von präklinischen Fällen der familiären Form von MTC empfohlen. In Blutproben können verschiedene Formen von Calcitonin gefunden werden, d.h. monomere, dimere und polymere Formen sowie Fragmente und Vorläufer des ausgereiften Hormones.

TESTPRINZIP

In diesem immunradiometrischen Assay (IRMA) werden zwei hochaffine monoklonale Antikörper verwendet. Der Iod-125 markierte Signalantikörper bindet an ein Epitop des Calcitonin-Moleküls welches sich von dem zweiten biotin markierten Fängerantikörper unterscheidet. Die beiden Antikörper reagieren gleichzeitig mit dem vorhandenen Antigen in den Standards und den Proben, wodurch Fängerantikörper-Antigen-Signalantikörper-Komplexe, auch „Sandwich“ genannt, gebildet werden. Die Immunkomplexe werden während der über Nacht dauernden Inkubationszeit an die reaktive Oberfläche der Streptavidin beschichteten Teströhrchen gebunden. Das Reaktionsgemisch wird anschließend verworfen, die Teströhrchen ausgiebig gewaschen und dann die Radioaktivität der gebundenen Immunkomplexe in einem Gamma-Counter Messgerät gemessen. Die Antigenkonzentration ist direkt proportional zu der gemessenen Radioaktivität in den Teströhrchen. Anhand der mitgelieferten Kalibratoren und deren definierten Konzentrationen wird eine Eichkurve erstellt und aus dieser die Calcitonin Konzentrationen der unbekanntem Patientenproben ermittelt.

MITGELIEFERTE REAGENZIEN

TRACER I-125 1 Flasche **TRACER**, gebrauchsfertig. 11 mL pro Flasche, enthält < 740 kBq ¹²⁵I-signal und biotinylierten Fängerantikörper in Puffer mit rotem Farbstoff und 0.1 % NaN₃.

CAL 0 – 5 LYO 6 Flaschen **STANDARD** (6 x 1ml) lyophilisiert, in Pferdeserum mit 0.1% NaN₃. Die genaue Konzentration ist dem QC Datenblatt zu entnehmen. (Kalibriert gegen den Internationalen WHO Standard, 89/620). Siehe Vorbereitung der Reagenzien.

CONTROL 1 und 2 LYO 2 Flaschen **KONTROLLEN**, niedrig (CI) und hoch (CII). Lyophilisiert, in humanem Serum mit 0.1% NaN₃. Die Konzentrationen der Kontrollen sind dem beigefügten QC Datenblatt zu entnehmen. Siehe Vorbereitung der Reagenzien.

DIL 1 Flasche **VERDÜNNER**, gebrauchsfertig. 2.0 ml pro Flasche, Pferdeserum mit 0.1% NaN₃.

SORB CT 2 Schachteln **BESCHICHTETE RÖHRCHEN**, gebrauchsfertig. 2x50 reaktive Röhrchen, 12x75 mm, in Plastikschachteln verpackt.

WASH SOLN 35x 1 Flasche **WASCHPUFFER KONZENTRAT (20 ml)**, enthält 0.2% NaN₃. Siehe Vorbereitung der Reagenzien.

QC Datenblatt

Arbeitsanleitung

BENÖTIGTES MATERIAL

- Herkömmliches Labormaterial
- 100 µl Präzisionspipetten
- 100 µl Wiederholungspipette
- Multipipetten bzw. Dispensette für 2.0 ml Volumen
- Plastikfolie zum Abdecken der Röhrchen
- Saugfähiges Papier
- Gamma-Counter

PROBENSAMMLUNG UND LAGERUNG

Die Serumproben können nach den gängigen Verfahren, welche routinemäßig in klinischen Laboren verwendet werden, vorbereitet werden. Die Proben können bei 2-8 °C gelagert werden, wenn der Assay innerhalb von 24h durchgeführt wird, ansonsten sollten die Proben aliquotiert und bei -20°C tiefgefroren werden. Eingefrorene Proben sollten, bevor sie für den Test eingesetzt werden, vollständig aufgetaut sein und gründlich durchgemischt werden.

VORBEREITUNG DER REAGENZIEN UND LAGERUNG

Fügen Sie dem Waschpuffer-Konzentrat (20ml) 700ml destilliertes Wasser hinzu, um eine Gesamtmenge von 720 ml Waschlösung zu erhalten. Nach der Verdünnung kann die Waschlösung bei 2-8°C bis zum angegebenen Verfallsdatum des Kits gelagert werden.

Fügen Sie den lyophilisierten Kontrollseren und den Kalibratoren 1 mL destilliertes Wasser hinzu und durchmischen Sie diese vorsichtig durch Schütteln oder Vortexen (Schaumbildung sollte vermieden werden). Vergewissern Sie sich, dass eine vollständige Lösung erfolgt ist und equilibrieren Sie die Lösung mindestens 20 Minuten bei Raumtemperatur.

Für den weiteren Gebrauch müssen rekonstituierte Standards und Kontrollen bei -20°C bis zum Verfallsdatum des Kits gelagert werden.

Lagern Sie den Rest der Reagenzien nach dem Öffnen zwischen 2-8 °C. bei dieser Temperatur sind die Reagenzien bis zum angegebenen Verfallsdatum des Kits stabil.

TESTDURCHFÜHRUNG

(Kurzanleitung siehe Tabelle 1.)

1. Bringen Sie alle Reagenzien und Serumproben vor Gebrauch auf Raumtemperatur. Homogenisieren Sie durch behutsames Mischen und vermeiden Sie Schaumbildung.
2. Beschriften Sie je zwei beschichtete Teströhrchen für jeden Kalibrator (S0-S5), jede Kontrolle (CI, CII) und Probe. Zur Bestimmung der Totalaktivität beschriften Sie optional 2 normale Röhrchen.
3. Geben Sie 100 µl Kalibratoren, Kontrollen und Proben in die entsprechend beschrifteten Röhrchen, ohne dabei den inneren Röhrchenboden mit der Pipettenspitze zu berühren. Benutzen Sie einen Ständer für die Röhrchen.
4. Geben Sie 100 µl des Tracers in jedes Röhrchen.
5. Schütteln Sie alle Röhrchen vorsichtig und decken Sie alle Röhrchen mit einer Plastikfolie ab..
6. Inkubieren Sie die Röhrchen für 16-24 Stunden bei Raumtemperatur.
7. Geben Sie 2 ml der verdünnten Waschlösung in jedes Röhrchen (außer bei der Totalaktivität). Saugen Sie den Inhalt jedes Röhrchens ab (außer der Totalaktivität) oder dekantieren Sie den Überstand und lassen die Röhrchen 2 Minuten umgedreht auf einem saugfähigen Papier stehen.
8. Wiederholen Sie den Waschschrift zwei Mal (insgesamt 3 Waschvorgänge).
9. Messen Sie die Röhrchen in einem Gamma-Counter für mind. 60 Sekunden.
10. Berechnen Sie die Calcitonin Konzentrationen der Proben wie unter „Berechnung der Ergebnisse“ beschrieben oder benutzen Sie eine spezielle Software.

Tabelle 1: Kurzanleitung, Pipettierschema (alle Volumina in µl)

Röhrchen	Total	Kalibrator	Kontrolle	Proben
Kalibrator		100		
Kontrolle			100	
Proben				100
Tracer	100	100	100	100
Votexen, 16-24 Stunden inkubieren bei Raumtemperatur				
Waschlösung		2000	2000	2000
Überstand absaugen oder dekantieren				
Waschlösung		2000	2000	2000
Überstand absaugen oder dekantieren				
Waschlösung		2000	2000	2000
Überstand absaugen oder dekantieren				
Messen der Radioaktivität (60 Sek/Röhrchen)				
Berechnen der Konzentrationen				

BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Die Berechnung wird hier unter Verwendung repräsentativer Daten erklärt. Ihre ermittelten Testdaten sollten denen in Tabelle 2 dargestellten ähneln.

Berechnen Sie den Mittelwert aus den „counts per minute“ (CPM) für jeden Doppelansatz. Berechnen Sie mit Hilfe der folgenden Formel, den normalisierten Bindungsprozentsatz für jeden Kalibrator beziehungsweise jede Probe und Kontrolle:

$$B/T(\%) = \frac{S_{1-5} / C / M_x (\text{cpm}) - S_0 (\text{cpm})}{T(\text{cpm})} \times 100$$

Zeichnen Sie eine Standardkurve, indem Sie den B/T (%) für jeden Kalibrator gegen die dazugehörige Calcitonin Konzentration auf semi-logarithmischen Millimeterpapier eintragen. Berechnen Sie die Calcitonin Konzentration für jede unbekannte Probe durch Interpolation aus der Standardkurve. Werte außerhalb des Bereichs der Standardkurve werden nicht extrapoliert.

Computergestützte Methoden können ebenfalls zur Erstellung der Kalibrationskurve verwendet werden. Falls die Ergebnisberechnung mit dem Computer durchgeführt wird, empfehlen wir die Berechnung mit einer „4 Parameter“-Kurvenfunktion.

Automatische Auswertungssysteme sind verfügbar und zu empfehlen.

Tabelle 2: Typische Testwerte

Röhrchen	Mittelwert cpm	B/T%
T	303 022	-
S0	182	0.06
S1	1 459	0.42
S2	4 759	1.51
S3	15 195	4.95
S4	46 921	15.4
S5	143 589	47.3
CI	2 804	0.87
CII	9 714	3.15

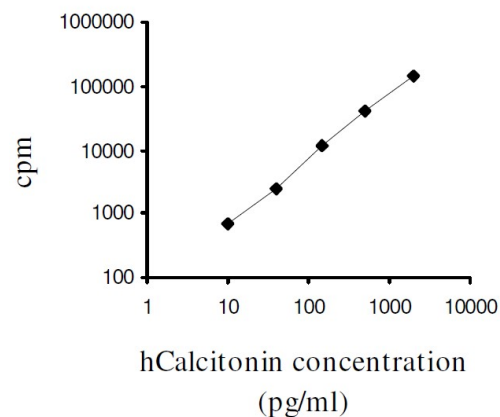


Abb.1: typische Standardkurve
(nicht zur Berechnung der Proben verwenden!!)

ASSAY CHARAKTERISTIK**Sensitivität**

Die analytische Sensitivität wird definiert als die niedrigste Konzentration (Nachweisgrenze) ermittelt aus der 2-fachen Standardabweichung vom Null-Standard. Die analytische Sensitivität wurde durch 20-fache Wiederholung der Messung des Null-Kalibrators ermittelt und beträgt 0,5 pg/mL.

Die Grenzen des Blank (LoB), der Nachweisgrenze (LoD) und der Quantitätsgrenze (LoQ) wurden in Übereinstimmung mit den CLSI-Richtlinien, Dokument EP17, bestimmt.

Grenzwert des Blank (LoB): 0,65 pg/mL

Nachweisgrenze (LoD): 1,2 pg/mL

Grenzwert der Quantität (LoQ): 2,0 pg/mL

Die funktionale Sensitivität ist gleich dem Grenzwert der Quantität (LoQ).

Präzision und Reproduzierbarkeit

7 Proben wurden in 20-fach Bestimmung/Replikaten bestimmt, um die Intra-Assay Präzision zu ermitteln. Um die Inter-Assay Präzision zu ermitteln wurden 7 Proben in 20 unabhängigen Assays von drei verschiedenen Bedienern unter Verwendung von drei verschiedenen Kit Batches bestimmt.

Die Werte sind nachfolgend aufgeführt:

Sample	intra-assay		inter-assay	
	Mean (pg/mL)	CV%	Mean (pg/mL)	CV%
1	0.9	17.9	1.8	21.9
2	23.6	2.7	24.9	5.1
3	25.3	3.2	28.2	6.0
4	161.2	1.6	170.6	6.2
5	180.8	4.4	198.0	6.6
6	348.3	1.7	364.4	6.4
7	782.3	1.4	812.4	6.4

Wiederfindung

Als Wiederfindung bezeichnet man die erwartete messbare Konzentrationserhöhung einer Serumprobe nach Zugabe von definierten Calcitonin Mengen in Prozent („spiking“).

4 unterschiedliche Patientenserumproben wurden mit bekannter Calcitonin-Konzentration in drei verschiedenen Leveln versetzt und anschließend die wiedergefundene Konzentration in den jeweiligen Proben gemessen.

Die prozentuale Wiederfindung aller Proben lag im Durchschnitt zwischen 101 - 122%.

Spezifität

Die in diesem Assay verwendeten monoklonalen Antikörper sind spezifisch für humanes Calcitonin. Interferenzen von humanem Procalcitonin in dem Assay können bis zu einer Procalcitonin Konzentration von ≤ 80 ng/mL nicht detektiert werden.

Linearität

Fünf individuelle Serumproben wurden seriell mit humanem Serum mit niedriger Calcitoninkonzentration verdünnt und gemäß Kit Anleitung gemessen. Die Durchschnittliche Wiederfindung nach der Verdünnung betrug 110%. Die folgende Gleichung für die gemessene (Y) gegen die erwartete (X) Konzentration, zeigt die gute Linearität:

$$Y = 1.139X - 1.5616 \quad R^2 = 0.9951 \quad n = 20$$

Hook Effekt

Das Kit hat keinen "Hook Effekt" mit Calcitoninwerten bis zu 300 000 pg/ml. Proben, von denen erwartet wird, dass sie Konzentrationen aufweisen, die über dem höchsten Standard liegen, sollten mit dem Verdünnungsserum verdünnt und erneut untersucht werden. Sequenzielle Verdünnungen 1:10 werden empfohlen.

Erwartete Werte

Basierend auf der Messung von 607 vermutlich gesunden adulten Serumproben (304 weiblich und 303 männlich) liegt der erwartete Bereich von Calcitonin bei **0 - 10 pg/ml** (99,8% der Proben). Es wird empfohlen, dass jedes Labor unabhängig seine eigenen Normalwerte erstellt.

EINSCHRÄNKUNGEN

- Die im Kit enthaltenen Reagenzien sind für die Messung der Calcitonin Level in humanem Serum optimiert.
- Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Reagenzien und Proben.
- Hämolytische und lipämische Proben können zu falschen Werten führen und sollten nicht verwendet werden.
- Die Ergebnisse dieses Tests sollten immer im Zusammenhang mit anderen entsprechenden klinischen Informationen gesehen werden.
- In einigen pathologischen Situationen kann Calcitonin ohne diagnostischen oder prognostischen Wert erhöht sein, z.B. in einigen Fällen von Hyperkalzämie, Niereninsuffizienz, Hypergastrinämie und akuter Pankreatitis.

HINWEISE ZUR DURCHFÜHRUNG

Die Nichtbeachtung dieser Anleitung kann die Resultate Signifikant beeinflussen.

Es sollten keine Komponenten verschiedener Lots oder von unterschiedlichen Herstellern gemischt oder vertauscht werden.

Fehlerquelle! Die reaktiven Teströhrchen sind in Plastiksachteln verpackt und nicht extra beschriftet. Achten Sie darauf, diese nicht mit normalen Teströhrchen zu vermischen. Nehmen Sie daher nie mehr Röhrchen aus der Plastiksachtel als Sie wirklich benötigen. Es wird empfohlen, Teströhrchen mit einem Marker zu beschriften.

WARN- UND SICHERHEITSHINWEISE

Radioaktivität

Dieses Produkt enthält radioaktives Material. Es liegt in der Verantwortung des Nutzers die lokalen Bestimmungen oder gesetzliche Vorschriften die das Umgehen mit radioaktivem Material betreffen einzuhalten.

Potenziell infektiöses Material

Die in diesem Kit verwendeten humanen Blutprodukte stammen von gesunden Spendern. Sie wurden individuell mit anerkannten Methoden (EIA, Enzym Immunassay) negativ auf das Vorhandensein von Humanem Immunodeficiency Virus Antikörper (Anti-HIV-1/2), Hepatitis-C Antikörper (anti-HCV): Treponema Antikörper und Hepatitis B Oberflächen Antigen (HBsAg) getestet. Beim Umgang mit humanen Proben die in diagnostischen Kits getestet werden, sollte immer große Sorgfalt walten gelassen werden. Auch wenn eine Person negativ getestet wurde, kann keine Methode komplette Sicherheit gewähren, dass keine infektiösen Erreger vorhanden sind. Daher sollten humane Blutproben grundsätzlich wie potentiell infektiöses Material behandelt werden.

Alle tierischen Produkte und Bestandteile wurden von gesunden Tieren gewonnen. Trotzdem sollten die Komponenten welche tierisches Material enthalten als potentiell infektiöses Material behandelt werden.

Chemische Gefährdung

Die Komponenten enthalten Natrium Azid als antimikrobielles Mittel. Bei der Entsorgung des Abfalls sollte mit ausreichend Wasser nachgespült werden, um die Anhäufung von explosivem metallischem Azid in Kupfer- und Bleirohren zu vermeiden. Die Gesamtmenge von Azid in jedem Paket beträgt 61 mg.

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Lagern Sie dieses Produkt bei einer Temperatur von 2-8°C.

Haltbarkeit: 67 Tage ab Verfügbarkeit