

Prolifigen[®] TPA[®] -M IRMA

Immunoradiometric assay for the quantification of
Tissue Polypeptide Antigen (TPA)

Instruction Manual

Manuel d'Instructions

Testanleitung

Manual de Instrucciones

Manuale di Istruzioni

Brugsanvisning

Bruksanvisning

Felhasználói utasítás

Návod k použití

Εγχειρίδιο οδηγιών

REF: 324.121

DiaSorin

Stillwater, Minnesota 55082-0285, U.S.A.

TABLE OF CONTENTS

English	Page 1
Français	7
Deutsch	13
Español	19
Italiano.....	25
Dansk	31
Svenska	36
Magyar	41
Česky	46
Ελληνικά	51

Intended Use

Prolifigen® TPA®-M IRMA is an immunoradiometric assay for the quantitative measurement of soluble fragments of cytokeratins 8, 18 and 19 in serum or other body fluids.

Principle of the procedure

Prolifigen® TPA®-M IRMA is a two-site monoclonal/polyclonal immunoradiometric (sandwich) assay. The sample is incubated with a monoclonal antibody coated plastic bead and ¹²⁵I-labelled polyclonal antibody to TPA® is added.

Warnings and Precautions for Users

1. General

- This product is for *in vitro* diagnostic use only.
- This kit must not be used after the expiry date printed on the package.
- Do not mix reagents from different master lots.
- The accuracy of the results of this assay is directly related to the degree of care exercised during pipetting, vortexing, aspiration, and adherence to methodology and temperature requirements.
- Sodium azide used as a preservative in this product can cause irritation: avoid contact with the skin and mucosa.
- Avoid microbial contamination of reagents.
- Observe the normal precautions required for handling all laboratory reagents.
- Disposal of all waste material should be in accordance with local guidelines.
- The components of the kit as well as the patient sera should be considered as if they were potentially infectious and should be handled with adequate precautions.
- Material Safety data sheets are available on request.

2. Radioactive material

Reagents Containing Iodine-125

This kit contains radioactive material which does not exceed 27 µCi (1003 kBq) of iodine-125. Appropriate precautions and good laboratory practices should be used in the storage, handling, and disposal of this material.

For practitioners or institutions receiving radioisotopes under a general license:

This radioactive material may be received, acquired, possessed, and used only by physicians, veterinarians in the practice of veterinary medicine, clinical laboratories, or hospitals, and only for *in vitro* clinical or laboratory tests not involving internal or external administration of the material, or the radiation therefrom, to human beings or animals. Its receipt, acquisition, possession, use, and transfer are subject to the regulations and the general license of the U.S. Nuclear Regulatory Commission or of the state with which the Commission has entered into an agreement for the exercise of regulatory authority.

1. Storage of radioactive material should be limited to a specifically designated area.
2. Access to radioactive materials must be limited to authorized personnel only.
3. Do not pipette radioactive material by mouth.
4. Do not eat or drink within designated radioactive work areas.
5. Areas where spills may occur should be wiped up, then washed with an alkali detergent or radiological decontamination solution. Any glassware used must be rinsed completely with water before washing with other laboratory glassware.

For practitioners or institutions receiving radioisotopes under a specific license:

The receipt, use, transfer, and disposal of radioactive materials are subject to the regulations and conditions of your specific license.

WARNING: This product contains a chemical known to the State of California to cause cancer.

ATTENTION: Radioactivity printed in the package insert may be slightly different from the radioactivity printed on the box label and on the tracer vial label. The box label and the tracer vial label indicate the actual amount of radioactivity at the calibration date where the package insert indicates the theoretical radioactivity of the kit.

Components of the kit

The following reagents are supplied with each test kit for 100 assay tubes:

- 1. TPA[®]-M IRMA Antibody-coated beads**
1 bottle containing >100 dry beads coated with monoclonal (mouse) anti-TPA antibodies. Contains bovine serum albumin (BSA).
- 2. TPA[®]-M IRMA Tracer**
1 vial containing 21 mL ¹²⁵Iodine labelled polyclonal anti-TPA antibody. Total radioactivity -1003 KBq (-27 µCi). Red coloured to aid identification. Contains bovine serum albumin (BSA).
- 3. TPA[®]-M IRMA Calibrators**
6 x 1 mL vials TPA calibrator material; concentrations of 0, 50, 100, 200, 600 and 4000 U/L respectively in phosphate buffer with BSA.
- 4. TPA[®]-M IRMA Diluent**
1 x 2.5 mL vial containing phosphate buffer with BSA.
- 5. TPA[®]-M IRMA Controls 1 and 2**
2 x 1 mL vials containing TPA in phosphate buffer with BSA.
- 6. Quality control report**

Note: Reagents 2, 3, 4 and 5 above contain <0.1% sodium azide as a preservative.

The Prolifigen[®] TPA[®]-M IRMA kit should be stored at 2 – 8 °C prior to use.

Other materials required but not provided

- Polystyrene round bottomed test tubes (12 x 70–75 mm), disposable.
- Test tube rack.
- Micropipette (100 µL) and microdispensers (200 µL).
- Purified water as Wash Fluid.
- Vortex mixer.
- Bead washing system, or 2 mL repeating dispenser for addition of wash fluid and a vacuum aspiration device.
- Horizontal shaker suitable for holding test tube racks.
Optimal speed about 200 rpm.
- Gamma counter set for ¹²⁵Iodine. Efficiency of counter should be >40%.
- Plastic forceps or bead dispenser for adding beads to tubes.
- Facilities for handling and disposal of radioactive material.
- Computer with appropriate program (often integrated in gamma counter), or calculator and graph paper, log-log type, or the RIA-mat[®] 280 for the fully automated performance of the test.

Traceability of Calibrators and Controls

The calibrators and controls of the kit consist of Tissue Polypeptide Antigen (TPA). This TPA originates from purified and well-characterized material. Calibrators and Controls are calibrated against in-house reference TPA material.

Specimen collection, preparation & storage

- Blood samples should be taken before any treatment is given, either initial or repeat.
- Serum is recommended for the quantitative determination of TPA®.
- Enough blood should be collected to be sufficient for 2 x 100 µL serum (duplicate samples).
- If the specimen is to be assayed within 24 hours, store at 2 – 8 °C. If the specimen will not be assayed within 24 hours, freeze to below –18 °C. Once frozen, the specimen should only be thawed once.
- Do not use samples which are grossly lipaemic, hemolysed or contaminated.
- Samples which have been found to contain over 4000 U/L can be diluted with TPA®-M IRMA Diluent to get an exact value. The diluted sample should be mixed gently prior to assay and the dilution factor taken into account in the final calculation.
- Frozen sera should be mixed gently after thawing.

Preparation of reagents before use

Before each use, all reagents must be allowed to warm to room temperature (20-28 °C) and should be gently mixed. Bacterial contamination of stored reagents must be avoided.

Storage of reagents after use

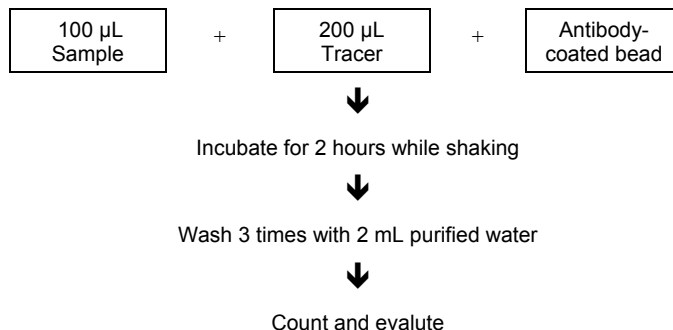
If all the kit is not used at one time, the reagents should be stored in their original containers at 2 – 8 °C. The reagents, thus stored, are stable until the expiry date printed on the box label.

Assay procedure

Perform each determination in duplicate.

1. Add 100 µL TPA®-M IRMA Calibrator/patient serum/TPA®-M IRMA Control to each appropriately marked tube.
2. Add 200 µL of TPA®-M IRMA Tracer to each tube (the solution has a red color). To estimate total counts (T), add 200 µL Tracer to a tube and count radioactivity without further processing.
3. Add one plastic bead to each tube using plastic forceps or a bead dispenser.
4. Incubate the tubes for 2 hours at room temperature (20 – 28 °C) on a shaker. (Optimal speed about 200 rpm and amplitude 20 mm).
5. Wash each bead 3 times with 2 mL purified water.
6. Count radioactivity in a gamma counter.

Flow Diagram



Processing of results

Use a computer with a program for handling IRMA type data to evaluate the TPA[®] levels in reference sera and patient sera. Alternatively, counts or bound activity (% B/T) may be plotted manually against analyte concentration. For this purpose, log-log diagram paper is recommended.

Quality Control

It is recommended that the laboratory has its own set of QC controls, in addition to the TPA[®]-M IRMA Controls 1 and 2 provided in the kit.

Example of results

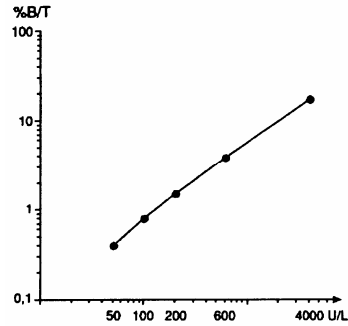
This is an **example** only and should not be used in calculations.

Sample	CPM	% B/T	TPA U/L
Total	408 992	–	–
B ₀	845	0.2	0
Calibrator 50	2 014	0.5	50
Calibrator 100	3 364	0.8	100
Calibrator 200	6 220	1.5	200
Calibrator 600	14 811	3.6	600
Calibrator 4000	59 945	14.7	4 000
Patient sample 1	1 927	0.5	46
Patient sample 2	8 110	2.0	274
Patient sample 3	27 056	6.6	1 355

To obtain optimal results (B/T ~12% for calibrator 4000 U/L) the shaking speed should be 200 rpm and amplitude 20 mm.

Example of Calibrator Curve

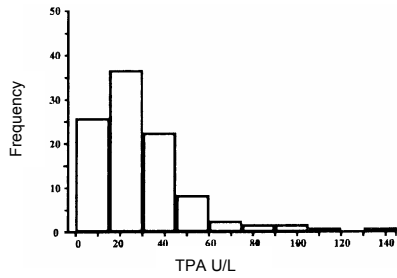
This is an **example** only and should not be used in calculations.



Expected values and limitations of the procedure

In a study of 400 apparently healthy individuals, 95% in the lognormal distribution were found to have serum TPA® values of less than 75 U/L. The distribution is shown in the figure below.

Distribution of TPA® values in healthy individuals



Test characteristics

Precision

Mean (U/L)	Coefficient of variation	
	CV (%) within run	CV (%) between run
71	4.6	7.0
201	2.6	1.7
349	2.8	4.0
771	2.1	4.1
1 553	2.8	4.1

Sensitivity

Minimum measurable TPA[®] value (B_0 value + 3 SD) <15 U/L.

Measuring range

The measuring range of the TPA[®]-M IRMA kit is up to 4000 U/L.

Values above 4000 U/L can be measured after diluting the sample with TPA[®]-M IRMA Diluent and repeating the assay.

 B_0/T

The B_0/T value should be <0.5%.

Indication

Prolifigen® TPA®-M IRMA est un dosage radio-immunométrique permettant d'effectuer la détermination quantitative des fragments solubles de cytokératine 8, 18 et 19 dans le sérum ou d'autres fluides corporels.

Principe de la procédure

Prolifigen® TPA®-M IRMA est un dosage radio-immunométrique monoclonal/polyclonal à deux sites (principe du sandwich). L'échantillon est incubé avec une bille de plastique coâtée à l'anticorps monoclonal. Un anticorps polyclonal de TPA® marqué à l'iode ¹²⁵ est ajouté.

Avertissements et précautions pour les utilisateurs

1. Informations générales

- Ce produit est à usage *in vitro* uniquement.
- Cette trousse ne doit pas être utilisée au-delà de la date de péremption indiquée sur l'emballage.
- Ne pas mélanger les réactifs de lots différents.
- La précision des résultats de ce dosage est directement liée au degré d'attention lors des phases de pipetage, d'agitation sur le vortex, d'aspiration et au respect des méthodes et températures.
- L'azide de sodium utilisé comme conservateur peut provoquer une irritation : éviter le contact avec la peau et les muqueuses.
- Eviter la contamination microbienne des réactifs.
- Observer les précautions normales lors de la manipulation des réactifs de laboratoire.
- La mise au rebut de toutes les substances usagées doit être conforme aux directives locales.
- Les composants de la trousse et les sérums du patient doivent être considérés comme potentiellement infectieux ; ils doivent donc être manipulés en adoptant les précautions de rigueur.
- Des feuilles de données sur la sécurité du produit sont disponibles sur demande.

2. Produit radioactif

RÉACTIFS CONTENANT DE L'LODE 125

Cette trousse contient un produit radioactif qui ne dépasse pas 27 µCi (1003 kBq) d'iode-125. Les précautions appropriées et les bonnes pratiques de laboratoire doivent être utilisées pour la conservation, la manipulation et la mise au rebut de ce produit.

Pour les praticiens ou les établissements recevant des radio-isotopes dans le cadre d'une licence générale :

Ce produit radioactif peut être reçu, réceptionné, détenu et utilisé uniquement par des médecins, des laboratoires cliniques, des hôpitaux, des vétérinaires et des centres de recherche dans le cadre de la pratique de médecine vétérinaire, de laboratoires cliniques ou des hôpitaux, et uniquement pour des analyses cliniques ou de laboratoire *in vitro* n'impliquant pas l'administration interne ou externe du produit, ni par rayonnement, à l'homme ou à l'animal. Sa réception, son acquisition, sa détention, son utilisation et son transfert sont sujets aux réglementations et à la licence générale de l'U.S. Nuclear Regulatory Commission de l'État avec lequel la Commission a conclu un accord pour l'exercice de l'autorité réglementaire.

1. Le produit radioactif doit être conservé à un endroit désigné.
2. L'accès aux produits radioactifs doit être limité au personnel autorisé uniquement.
3. Ne pas pipeter des solutions radioactives avec la bouche.
4. Ne pas manger, ni boire dans les zones de travail radioactives.

5. En cas de déversement de produits radioactifs dans une zone, nettoyer la zone, puis la laver à l'aide d'un produit détergent à base d'alcali ou d'une solution de décontamination radioactive. Tout article de verre utilisé doit être entièrement lavé à l'eau avant de laver les autres articles de verre du laboratoire.

Pour les praticiens ou les établissements recevant des radio-isotopes dans le cadre d'une licence spécifique :

La réception, l'utilisation, le transfert et la mise au rebut de produits radioactifs sont sujets aux réglementations et conditions de votre licence spécifique.

AVERTISSEMENT : Ce produit contient un produit chimique connu dans l'Etat de Californie comme étant cancérigène.

ATTENTION : La radioactivité imprimée sur la notice d'utilisation peut être légèrement différente de celle qui est imprimée sur l'étiquette de la boîte et sur l'étiquette du flacon du traceur. Les étiquettes de la boîte et du flacon du traceur indiquent la dose réelle de radioactivité à la date de calibrage, alors que la notice d'utilisation indique la radioactivité théorique de la trousse.

Composants de la trousse

Les réactifs suivants sont fournis dans chaque trousse de dosage pour 100 tubes à essais :

1. **Billes TPA[®]-M IRMA coatées à l'anticorps**
1 bouteille contenant >100 billes sèches coatées aux anticorps monoclonaux anti-TPA (souris). Contient de l'albumine de sérum bovin (BSA).
2. **Traceur TPA[®]-M IRMA**
1 flacon contenant 21 mL d'anticorps anti-TPA polyclonal marqué à l'Iode ¹²⁵. Radioactivité totale -1003 KBq (-27 µCi). Coloration rouge pour faciliter son identification. Contient de l'albumine de sérum bovin (BSA).
3. **Etalons TPA[®]-M IRMA**
6 flacons de 1 mL d'étalon TPA à des concentrations respectives 0, 50, 100, 200, 600 et 4000 U/L dans un tampon phosphate avec de la BSA.
4. **Diluant TPA[®]-M IRMA**
1 flacon de 2,5 mL contenant un tampon phosphate avec de la BSA.
5. **Contrôles 1 et 2 TPA[®]-M IRMA.**
2 flacons de 1 mL contenant de la TPA dans un tampon phosphate avec de la BSA.
6. **Rapport de contrôle qualité**

Remarque : les réactifs 2, 3, 4 et 5 ci-dessus contiennent <0,1% d'azide de sodium comme conservateur.

La trousse Prolifigen[®] TPA[®]-M IRMA doit être conservée à 2 – 8 °C avant utilisation.

Autre matériel requis mais non fourni

- Tubes à essais en polystyrène à fond arrondi (12 x 70–75 mm) jetables.
- Portoir pour tubes à essais.
- Micropipettes (100 µL) et microdistributeurs (200 µL).
- Eau purifiée comme fluide de nettoyage.
- Agitateur vortex.
- Système de lavage des billes, ou distributeur à répétition de 2 mL pour l'ajout de fluide de lavage et un instrument d'aspiration à vide.
- Un mélangeur horizontal pouvant maintenir les portoirs des tubes à essais.
Vitesse optimale : environ 200 tr/min.
- Compteur à rayons gamma paramétré pour l'Iode ¹²⁵. L'efficacité du compteur doit être >40%.

- Pinces en plastique ou distributeur de billes pour ajouter des billes dans les tubes.
- Equipement pour la manipulation et la mise au rebus des produits radioactifs.
- Un ordinateur doté d'un programme approprié (souvent intégré dans le compteur à rayons gamma) ou une calculatrice et du papier à diagramme de type bilogarithmique, ou RIA-mat[®] 280 pour le déroulement entièrement automatique du test.

Traçabilité des étalons et contrôles

Les étalons et contrôles de la trousse consistent en un Tissue Polypeptide Antigen (TPA). Ce TPA est tiré de produits purifiés et bien caractérisés. Les étalons et les contrôles sont calibrés selon une référence interne pour le produit TPA.

Prélèvement, préparation et conservation de l'échantillon

- Les échantillons de sang doivent être prélevés avant le début de tout traitement initial ou répété.
- Le sérum est recommandé pour la détermination quantitative de la TPA[®].
- Prélever la quantité de sang nécessaire pour obtenir 2 x 100 µL de sérum (échantillons en double).
- Si l'échantillon doit être dosé dans les 24 heures, le conserver à 2 – 8 °C. S'il ne doit pas être dosé dans les 24 heures, le congeler à moins de –18 °C. Après avoir été congelé, l'échantillon ne doit être décongelé qu'une seule fois.
- Ne pas utiliser d'échantillons fortement lipémiques, hémolyses ou contaminés.
- Les échantillons qui contiennent plus de 4000 U/L peuvent être dilués à l'aide du diluant TPA[®]-M IRMA afin d'obtenir une valeur exacte. L'échantillon dilué doit être soigneusement mélangé avant le dosage ; tenir compte du facteur de dilution dans le calcul final.
- Les sérums congelés doivent être soigneusement mélangés après la décongélation.

Préparation des réactifs avant l'utilisation

Avant chaque utilisation, tous les réactifs doivent atteindre la température ambiante (20-28 °C) et être soigneusement mélangés. La contamination bactérienne des réactifs conservés doit être évitée.

Conservation des réactifs après l'utilisation.

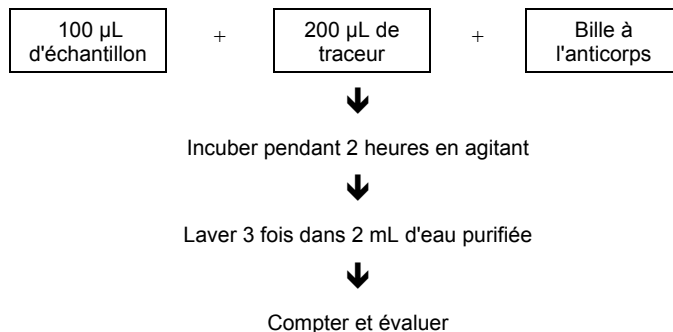
Si la trousse complète n'est pas utilisée en une seule fois les réactifs doivent être conservés dans leur emballage d'origine à 2 – 8 °C. Les réactifs ainsi conservés sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette de l'emballage.

Procédure de dosage

Procéder à chaque dosage en double.

1. Ajouter 100 µL d'étalon TPA[®]-M IRMA/sérum du patient/contrôle TPA[®]-M IRMA à chaque tube à essais dûment marqué.
2. Ajouter 200 µL de traceur TPA[®]-M IRMA à chaque tube (la solution est rouge). Pour estimer la numération totale (T), ajouter 200 µL de traceur à un tube et compter la radioactivité, sans autre traitement.
3. Ajouter une bille de pastique à chaque tube à l'aide d'une pince en plastique ou d'un distributeur de billes.
4. Incuber les tubes pendant 2 heures à température ambiante (20 – 28 °C) à l'aide d'un mélangeur. (Vitesse optimale : environ 200 tr/min pour une amplitude de 20 mm).
5. Laver 3 fois chaque bille dans 2 mL d'eau purifiée.
6. Compter la radioactivité dans un compteur à rayons gamma.

Organigramme



Traitement des résultats

Utiliser un ordinateur avec un programme pour la manipulation des données de type IRMA pour évaluer le taux de TPA[®] dans les sérums de référence et les sérums du patient. En alternative, les numérations ou l'activité liée (% B/T) peuvent être tracés à la main par rapport à la concentration d'analyte. Dans ce but, il est recommandé d'utiliser du papier bilogarithmique.

Contrôle qualité

Il est recommandé à chaque laboratoire d'avoir son propre jeu de contrôles CQ, outre les contrôles TPA[®]-M IRMA 1 et 2 fournis dans la trousse.

Exemple de résultats

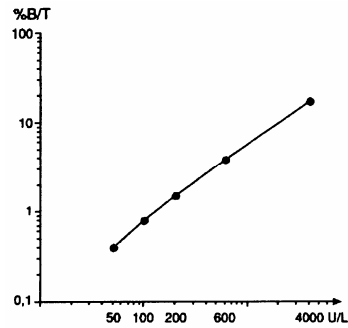
Ceci n'est qu'un **exemple** et ne doit pas être utilisé dans les calculs.

Échantillon	CPM	% B/T	TPA U/L
Total	408 992	–	–
B ₀	845	0,2	0
Étalon 50	2 014	0,5	50
Étalon 100	3 364	0,8	100
Étalon 200	6 220	1,5	200
Étalon 600	14 811	3,6	600
Étalon 4000	59 945	14,7	4 000
Echantillon du patient 1	1 927	0,5	46
Echantillon du patient 2	8 110	2,0	274
Echantillon du patient 3	27 056	6,6	1 355

Pour obtenir des résultats optimaux (B/T ~12% pour un étalon de 4000 U/L) la vitesse d'agitation doit être de 200 tr/min pour une amplitude de 20 mm.

Exemple de courbe d'étalonnage

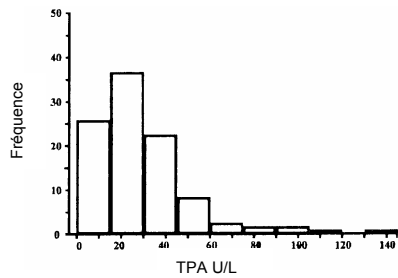
Ceci n'est qu'un **exemple** et ne doit pas être utilisé dans les calculs.



Valeurs attendues et limites de la procédure

Dans une étude conduite sur 400 individus visiblement sains, 95% dans la distribution lognormale ont affiché des valeurs de TPA[®] sérique inférieures à 75 U/L. La distribution est représentée dans le tableau ci-dessous.

Distribution des valeurs de TPA[®] chez les individus sains



Caractéristiques du dosage

Précision

Moyenne (U/L)	Coefficient de variation	
	CV (%) intra-essai	CV (%) inter essais
71	4,6	7,0
201	2,6	1,7
349	2,8	4,0
771	2,1	4,1
1 553	2,8	4,1

Sensibilité

Valeur minimum de TPA[®] détectable (B_0 valeur + 3 SD) <15 U/L.

Plage de mesure

La plage de mesure de la trousse TPA[®]-M IRMA s'élève à 4000 U/L.

Les valeurs supérieures à 4000 U/L peuvent être mesurées après dilution de l'échantillon avec le diluant TPA[®]-M IRMA et en répétant le dosage.

 B_0/T

La valeur B_0/T doit être de <0,5%.

Verwendungszweck

Der Prolifigen® TPA®-M IRMA ist ein immunradiometrischer Assay zur quantitativen Messung von löslichen Fragmenten der Cytokeratine 8, 18 und 19 in Serum oder anderen Körperflüssigkeiten.

Verfahrensprinzip

Der Prolifigen® TPA®-M IRMA ist ein mono- bzw. polyklonaler immunradiometrischer Two-Site- (Sandwich-) Assay. Die Probe wird mit einem mit monoklonalem Antikörper beschichteten Kunststoffkügelchen inkubiert, und ein ¹²⁵I-markierter polyklonaler Antikörper gegen TPA® wird hinzugegeben.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen für Benutzer

1. Allgemeines

- Dieses Produkt ist nur zur *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.
- Dieses Kit darf nach dem auf der Packung angegebenen Verfallsdatum nicht verwendet werden.
- Reagenzien aus verschiedenen Master-Chargen dürfen nicht vermischt werden.
- Die Genauigkeit der Ergebnisse dieses Assays hängt direkt von dem Ausmaß der beim Pipettieren, Vortexen und Aspirieren angewendeten Sorgfalt sowie der Einhaltung von Verfahrens- und Temperaturanforderungen ab.
- Da das als Konservierungsmittel in diesem Produkt verwendete Natriumazid zu Reizungen führen kann, ist der Kontakt mit Haut und Schleimhaut zu vermeiden.
- Mikrobielle Kontamination der Reagenzien vermeiden.
- Die normalen zur Handhabung aller Laborreagenzien erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen einhalten.
- Die Entsorgung aller Abfallmaterialien muss den lokalen Richtlinien entsprechen.
- Die Komponenten des Kits sowie die Patientenserum müssen wie potenziell infektiöse Substanzen und mit angemessenen Vorsichtsmaßnahmen behandelt werden.
- Material Sicherheitsdatenblätter sind auf Anfrage erhältlich.

2. Radioaktives Material

REAGENZIEN MIT JOD-125

Dieses Kit enthält radioaktives Material mit höchstens 27 µCi (1003 kBq) Jod-125. Bei der Lagerung, Handhabung und Entsorgung dieses Materials sind entsprechende Vorsichtsmaßnahmen und gute Laborpraktiken einzuhalten.

Für Ärzte bzw. Institutionen, die im Rahmen einer Generallizenz Radioisotope erhalten, gilt Folgendes:

Entgegennahme, Erwerb, Besitz und Verwendung dieses radioaktiven Materials sind nur Ärzten, veterinärmedizinisch tätigen Tierärzten, klinischen Labors oder Krankenhäusern und nur für klinische *In-vitro*-Tests oder *In-vitro*-Labortests gestattet, bei denen kein interner oder externer Kontakt des Materials oder seiner Strahlung mit Menschen oder Tieren stattfindet. Entgegennahme, Erwerb, Besitz, Verwendung und Weitergabe des Materials unterliegen den Vorschriften und der Generallizenz der US Nuclear Regulatory Commission bzw. des Staates, mit dem diese Behörde ein Abkommen zur Ausübung ihrer Überwachungsfunktion abgeschlossen hat.

1. Die Lagerung des radioaktiven Materials ist auf einen speziell dafür bestimmten Bereich zu beschränken.
2. Der Zugang zu radioaktivem Material ist nur befugten Personen zu gestatten.
3. Radioaktives Material nicht mit dem Mund pipettieren.
4. Im vorgesehenen radioaktiven Arbeitsbereich nicht essen oder trinken.
5. Verschüttetes Material aufwischen und den Bereich anschließend mit alkalischem Reinigungsmittel oder radiologischer Dekontaminationslösung wischen. Alle benutzten Glasbehälter gründlichst mit Wasser spülen, bevor sie zusammen mit anderen Laborbehältern aus Glas ausgewaschen werden.

Für Ärzte oder Einrichtungen, die im Rahmen einer Sondergenehmigung Radioisotope erhalten, gilt Folgendes:

Entgegennahme, Gebrauch, Weitergabe und Entsorgung radioaktiven Materials unterliegen den Vorschriften und Bedingungen der jeweiligen Sondergenehmigung.

VORSICHT: Dieses Produkt enthält eine Chemikalie, die nach Angaben des US-Bundesstaates Kalifornien krebserregend ist.

WICHTIGER HINWEIS: Die auf der Packungsbeilage angegebene Radioaktivität kann von der auf dem Etikett des Kartons und des Tracer-Fläschchens angegebenen etwas abweichen. Sowohl das Etikett des Kartons als auch das Etikett des Tracer-Fläschchens geben den tatsächlichen Wert der Radioaktivität am Kalibrationsdatum an, während die Packungsbeilage die theoretische Radioaktivität des Kits angibt.

Komponenten des Kits

In jedem Testkit sind die folgenden Reagenzien für 100 Teströhrchen enthalten:

- 1. Mit Antikörper beschichtete TPA[®]-M IRMA-Kügelchen**
1 Flasche mit >100 mit monoklonalen anti-TPA-Antikörpern (Maus) beschichteten Trockenkügelchen. Enthält bovines Serumalbumin (BSA).
- 2. TPA[®]-M IRMA-Tracer**
1 Fläschchen 21 mL mit Jod¹²⁵ markierter polyklonaler anti-TPA-Antikörper. Die Gesamtradioaktivität beträgt -1003 KBq (-27 µCi). Zur leichteren Bestimmung rot gefärbt. Enthält bovines Serumalbumin (BSA).
- 3. TPA[®]-M IRMA-Kalibratoren**
6 x 1 mL-Fläschchen TPA-Kalibrator-Material, Konzentrationen: 0, 50, 100, 200, 600 und 4000 U/L, in Phosphatpuffer mit BSA.
- 4. TPA[®]-M IRMA-Diluent**
1 x 2,5 mL-Fläschchen Phosphatpuffer mit BSA.
- 5. TPA[®]-M IRMA-Kontrollen 1 und 2**
2 x 1 mL-Fläschchen TPA in Phosphatpuffer mit BSA.
- 6. Qualitätskontrollbericht**

Hinweis: Die oben aufgeführten Reagenzien 2, 3, 4 und 5 enthalten <0,1 % Natriumazid als Konservierungsmittel.

Das Prolifigen[®] TPA[®]-M IRMA-Kit sollte vor Gebrauch bei 2–8 °C aufbewahrt werden.

Zusätzlich benötigte Materialien

- Runde Polystyrol-Einwegteströhrchen (12 x 70–75 mm).
- Teströhrchenständer.
- Mikropipette (100 µL) und Mikrodispensoren (200 µL).
- Destilliertes Wasser als Spülflüssigkeit.
- Vortex-Mixer.
- Kügelchen-Spülsystem oder 2 mL-Seriendispensor zum Hinzugeben von Spülflüssigkeit und ein Vakuum-Aspirationsgerät.
- Horizontaler, zum Halten von Teströhrchenständern geeigneter Schüttler (optimale Geschwindigkeit: ca. 200 U/min).
- Auf Jod¹²⁵ eingestellter Gammazähler. Die Effizienz des Zählers sollte >40 % betragen.
- Kunststoffpinzette oder Kügelchendispensor zum Hinzugeben von Kügelchen zu Röhrchen.
- Vorrichtungen für Handhabung und Entsorgung von radioaktivem Material.
- Computer mit entsprechendem Programm (häufig in den Gammazähler integriert) oder Taschenrechner und doppeltlogarithmisches Millimeterpapier oder der RIA-mat[®] 280 zur vollautomatischen Durchführung des Tests.

Verfolgbarkeit von Kalibratoren und Kontrollen

Die Kalibratoren und Kontrollen des Kits bestehen aus Gewebe-Polypeptid-Antigen (Tissue Polypeptide Antigen, TPA). Dieses TPA stammt aus gereinigtem und gut charakterisiertem Material. Die Kalibratoren und Kontrollen werden gegen unternehmenseigenes Referenz-TPA-Material kalibriert.

Probengewinnung, -vorbereitung und -lagerung

- Blutproben sollten vor einer erstmaligen oder wiederholten Behandlung genommen werden.
- Zur quantitativen Bestimmung von TPA[®] wird Serum empfohlen
- Es sollte genügend Blut für 2 x 100 µL Serum gewonnen werden (doppelte Proben).
- Die Probe bei 2–8 °C lagern, wenn sie innerhalb von 24 Stunden getestet werden soll. Andernfalls die Probe auf –18 °C einfrieren. Nach dem Einfrieren darf die Probe nur einmal aufgetaut werden.
- Keine stark lipämischen, hämolytischen oder kontaminierten Proben verwenden
- Proben, bei denen ein Gehalt von mehr als 4000 U/L ermittelt wurde, können mit TPA[®]-M IRMA-Diluent verdünnt werden, um einen exakten Wert zu erhalten. Die verdünnte Probe muss vor dem Test vorsichtig gemischt werden, und der Verdünnungsfaktor muss bei der endgültigen Berechnung berücksichtigt werden.
- Gefrorene Seren müssen nach dem Auftauen vorsichtig gemischt werden.

Vorbereitung der Reagenzien vor Gebrauch

Vor jedem Gebrauch müssen alle Reagenzien auf Raumtemperatur (20-28°C) gebracht und vorsichtig gemischt werden. Eine bakterielle Kontamination von gelagerten Reagenzien muss vermieden werden.

Lagerung von Reagenzien nach Gebrauch

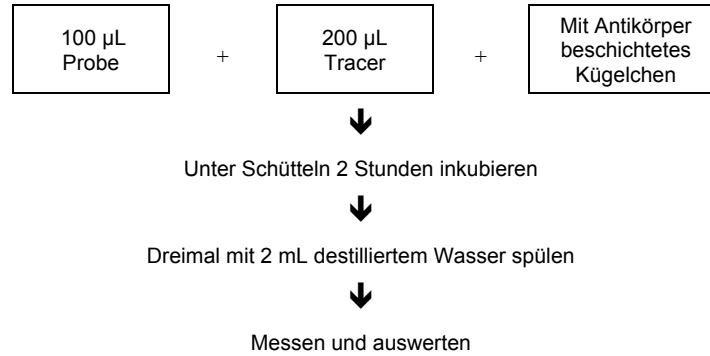
Wenn nicht das gesamte Kit gleichzeitig verwendet wird, sollten die Reagenzien bei 2–8 °C in ihren Originalbehältern gelagert werden. Die so gelagerten Reagenzien sind bis zu dem auf dem Packungsetikett angegebenen Verfallsdatum stabil.

Testverfahren

Jede Bestimmung in doppelter Ausführung vornehmen.

1. 100 µL TPA[®]-M IRMA-Kalibrator, Patientenserum und TPA[®]-M IRMA-Kontrolle in die einzelnen entsprechend gekennzeichneten Röhrchen geben.
2. 200 µL TPA[®]-M IRMA-Tracer in jedes Röhrchen geben (die Lösung ist rot gefärbt).
Zur Schätzung der Totalaktivität (T) 200 µL Tracer in ein Röhrchen geben und die Radioaktivität ohne weitere Verarbeitung messen.
3. Mit einer Kunststoffpinzette oder einem Kügelchendispenser ein Kunststoffkügelchen in jedes Röhrchen geben.
4. Die Röhrchen 2 Stunden bei Raumtemperatur (20–28 °C) auf einem Schüttler inkubieren (optimale Geschwindigkeit: ca. 200 U/min, Amplitude: 20 mm).
5. Jedes Kügelchen dreimal mit 2 mL destilliertem Wasser spülen.
6. Die Radioaktivität in einem Gammazähler messen.

Flussdiagramm



Ergebnisverarbeitung

Mit Hilfe eines Computers mit einem Programm zur Verarbeitung von IRMA-Daten die TPA[®]-Konzentrationen in den Referenz- und Patientenseren auswerten. Alternativ dazu können die Ergebnisse bzw. die gebundene Aktivität (B/T in %) manuell gegen die Analytkonzentration aufgetragen werden. Zu diesem Zweck wird doppeltlogarithmisches Millimeterpapier empfohlen.

Qualitätskontrolle

Es wird empfohlen, dass das Labor über einen eigenen Satz von Kontrollen zur Qualitätskontrolle zusätzlich zu den im Kit enthaltenen TPA[®]-M IRMA-Kontrollen 1 und 2 verfügt.

Ergebnisbeispiel

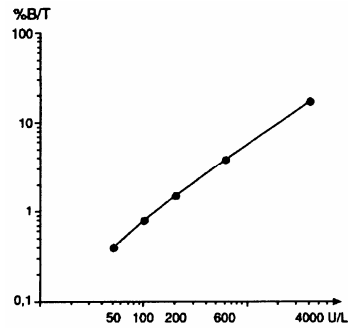
Dies ist nur ein **Beispiel**, das nicht für Berechnungen verwendet werden darf.

Probe	CPM	B/T (%)	TPA (U/L)
Gesamt	408 992	–	–
B ₀	845	0,2	0
Kalibrator 50	2 014	0,5	50
Kalibrator 100	3 364	0,8	100
Kalibrator 200	6 220	1,5	200
Kalibrator 600	14 811	3,6	600
Kalibrator 4000	59 945	14,7	4 000
Patientenprobe 1	1 927	0,5	46
Patientenprobe 2	8 110	2,0	274
Patientenprobe 3	27 056	6,6	1 355

Um optimale Ergebnisse zu erhalten (B/T ~12 % für Kalibrator 4000 U/L), sollte die Schüttelgeschwindigkeit 200 U/min und die Amplitude 20 mm betragen.

Beispiel für eine Eichkurve

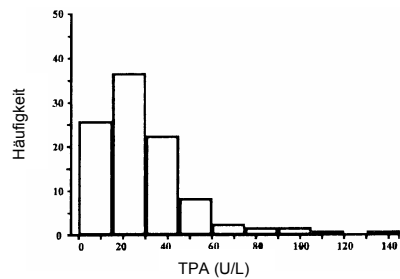
Dies ist nur ein **Beispiel**, das nicht für Berechnungen verwendet werden darf.



Erwartete Werte und Grenzen des Verfahrens

Bei einer Untersuchung von 400 offensichtlich gesunden Personen wurden bei 95 % der Personen innerhalb der logarithmischen Normalverteilung Serum-TPA[®]-Werte von weniger als 75 U/L ermittelt. Die Verteilung ist in der nachfolgenden Abbildung dargestellt.

Verteilung von TPA[®]-Werten bei gesunden Personen



Testmerkmale

Genauigkeit

Mittel (U/L)	Variationskoeffizient	
	Intra-Assay-VK (%)	Inter-Assay-VK (%)
71	4,6	7,0
201	2,6	1,7
349	2,8	4,0
771	2,1	4,1
1 553	2,8	4,1

Sensitivität

Der minimale messbare TPA[®]-Wert (B_0 -Wert + 3 SD) beträgt <15 U/L.

Messbereich

Der Messbereich des TPA[®]-M IRMA-Kits beträgt bis zu 4000 U/L.

Werte über 4000 U/L können nach Verdünnung der Probe mit TPA[®]-M IRMA-Diluent und Wiederholung des Tests gemessen werden.

 B_0/T

Der B_0/T -Wert sollte <0,5 % betragen.

Indicaciones

Prolifigen® TPA®-M IRMA es un análisis inmunorradiométrico para la medición cuantitativa de fragmentos solubles de citoqueratinas 8, 18 y 19 en suero y otros fluidos corporales.

Principio de procedimiento

Prolifigen® TPA®-M IRMA es un análisis inmunorradiométrico (sandwich) de dos variaciones sitio específicas monoclonal/policlonal. La muestra se incuba con un glóbulo plástico recubierto de anticuerpo monoclonal y se agrega anticuerpo policlonal etiquetado con ¹²⁵I al TPA®.

Advertencias y precauciones para el usuario

1. Generales

- Este producto está indicado únicamente para diagnósticos *in vitro*.
- El equipo no debe utilizarse después de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del paquete.
- No mezcle reactivos de diferentes lotes maestros.
- La precisión de los resultados de este ensayo está directamente relacionada con el cuidado que se presta a la dosificación, la medición en vórtex, la aspiración y el seguimiento exacto de los requisitos metodológicos y de temperatura.
- La azida sódica utilizada como conservante en este producto puede ocasionar irritación: evite que entre en contacto con la piel y las mucosas.
- Evite la contaminación microbiana de los reactivos.
- Observe las precauciones normales para el manejo de reactivos de laboratorio.
- La eliminación de residuos debe realizarse de acuerdo con la normativa local.
- Los componentes del equipo, así como el paciente se consideran como potencialmente infecciosos y deben atenderse con las precauciones correspondientes.
- Existen hojas de datos de seguridad de materiales disponibles.

2. Material radioactivo

REACTIVOS CON CONTENIDO DE YODO-125

PRECAUCIÓN: Algunos reactivos de este equipo contienen azida sódica. La azida sódica puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre y formar azidas metálicas altamente explosivas. Al desecharlo, enjuague con abundante agua para evitar que se acumule la azida. Para obtener información adicional, consulte "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts," en el manual Guide-Safety Management N° CDC-22 publicado por Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 1976.

Advertencias establecidas en la Comunidad Europea sobre el riesgo de sustancias peligrosas (Directiva del Consejo 1999/45/EC)

R 20/21/22 - Nocivo por inhalación, por ingestión y en contacto con la piel.

R 32 - En contacto con ácidos libera gases altamente tóxicos.

S28 - En caso de contacto con la piel, lávese inmediatamente con abundante agua.

REACTIVOS CON CONTENIDO DE AZIDA SÓDICA

Este equipo contiene material radiactivo que no supera de 27 µCi (1003 kBq) de yodo-125. Para almacenar, manejar y desechar este material, deben adoptarse las precauciones necesarias y prácticas de laboratorio correctas.

Para facultativos o instituciones que reciben radioisótopos con licencia genérica:

Este material radiactivo sólo deben recibirlo, adquirirlo, poseerlo y utilizarlo médicos, veterinarios que practiquen la medicina veterinaria, laboratorios clínicos u hospitales, y sólo para pruebas *in vitro* clínicas o de laboratorio que no conlleven la administración interna o externa del material ni su radiación a seres humanos ni animales. Su recepción, adquisición, posesión, uso y transferencia se rigen por la normativa y la

licencia genérica de la Comisión Reguladora Nuclear del estado en el que la Comisión haya llegado a un acuerdo para el ejercicio de su autoridad reguladora.

1. El almacenamiento del material radiactivo debe limitarse a un área destinada específicamente a tal efecto.
2. El acceso a materiales radiactivos debe estar limitado a personal autorizado únicamente.
3. No recoja material radiactivo con la pipeta usando la boca.
4. No coma ni beba dentro de las áreas destinadas a trabajos radiactivos.
5. Las áreas donde puedan producirse derrames deben enjugarse y después lavarse con un detergente alcalino o una solución decontaminante radiológica. Todo recipiente de vidrio utilizado debe enjuagarse completamente con agua antes de lavarse con otros recipientes de laboratorio.

Para facultativos o instituciones que reciben radioisótopos con licencia específica:

La recepción, uso, transferencia y eliminación de los materiales radiactivos se rigen por la normativa y las condiciones de la licencia en cuestión.

ADVERTENCIA: Este producto contiene una sustancia química conocida por el Estado de California como causante de cáncer.

ATENCIÓN: La radiactividad impresa en el interior del paquete puede diferir ligeramente de la impresa en la etiqueta de la caja y en la del vial del trazador. La etiqueta de la caja y la del trazador indican la cantidad real de radiactividad en la fecha de la calibración, mientras que el impreso del interior del paquete indica la radiactividad teórica del equipo.

Componentes del equipo

Cada equipo de prueba para 100 tubos de ensayo incluye los reactivos siguientes:

1. **Glóbulos recubiertos de anticuerpos de TPA[®]-M IRMA**
1 botella que contiene >100 glóbulos secos recubiertos de anticuerpos monoclonales (de ratón) anti-TPA. Contiene albúmina de suero bovino (BSA).
2. **Trazador TPA[®]-M IRMA**
1 vial que contiene 21 mL de anticuerpo anti-TPA policlonal etiquetado con ¹²⁵I. Radioactividad total -1003 KBq (-27 µCi). Color rojo para facilitar su identificación. Contiene albúmina de suero bovino (BSA).
3. **Calibradores TPA[®]-M IRMA**
6 viales de 1 mL de calibrador TPA ; concentraciones de 0, 50, 100, 200, 600 y 4000 U/L respectivamente en tampón fosfato con BSA.
4. **Disolvente para TPA[®]-M IRMA**
1 vial de 2,5 mL que contiene tampón fosfato con BSA.
5. **Controles 1 y 2 para TPA[®]-M IRMA**
2 viales de 1 mL que contienen TPA en tampón fosfato con BSA.
6. **Informe de control de calidad**

Nota: Los reactivos 2, 3, 4 y 5 mencionados contienen azida sódica al <0,1% como conservante.

El equipo Prolifigen[®] TPA[®]-M IRMA debe almacenarse a 2-8°C antes de su utilización.

Material necesario pero no suministrado

- Tubos de ensayo desechables de poliestireno con el fondo redondeado (12 x 70-75 mm).
- Gradilla de tubos de ensayo.
- Micropipeta (100 µL) y microdispensadores (200 µL).
- Agua purificada como fluido de lavado.
- Mezclador vórtex.

- Sistema de lavado de glóbulos o dispensador de repetición de 2 mL para agregar fluido de lavado al dispositivo de aspiración de vacío.
- Agitador horizontal apropiado para gradillas de tubos de ensayo. Velocidad óptima aproximada de 200 rpm.
- Equipo contador gamma para ¹²⁵I. La eficacia del contador debe ser del >40%.
- Fórceps de plástico o dispensador de glóbulos para agregarlos a los tubos.
- Herramientas para el manejo y la eliminación de material radioactivo.
- PC con el programa apropiado (con frecuencia integrado en el contador gamma), o calculadora y papel gráfico tipo log-log, o bien el equipo RIA-mat[®] 280 para un comportamiento totalmente automatizado del ensayo.

Trazabilidad de calibradores y controles

Los calibradores y controles del equipo consisten en antígeno polipeptido de tejido (TPA). Este TPA procede de material purificado bien caracterizado. Los calibradores y controles se calibran mediante material TPA de referencia propio.

Recogida, preparación y almacenamiento de la muestra

- Las muestras de sangre deben extraerse antes de suministrar ningún tratamiento, ni inicial ni de repetición.
- Se recomienda utilizar suero para la determinación cuantitativa de TPA[®].
- Debe extraerse suficiente sangre para 2 x 100 µL de suero (muestras duplicadas).
- Si se va a realizar el ensayo en un plazo de 24 horas, almacene la muestra a 2 - 8 °C. Si no va a realizar el ensayo en las primeras 24 horas, congélela por debajo de -18 °C. Una vez congelada, descongele la muestra una sola vez.
- No utilice muestras extremadamente lipémicas, hemolíticas ni contaminadas.
- Las muestras que contienen más de 4000 U/L pueden diluirse con disolvente TPA[®]-M IRMA hasta alcanzar un valor exacto. La muestra diluida debe mezclarse con suavidad antes del ensayo y el factor de disolución debe tenerse en cuenta en el cálculo final.
- Los sueros congelados deben mezclarse con suavidad una vez descongelados.

Preparación de los reactivos antes de su uso

Antes de cada uso, debe permitirse que todos los reactivos se calienten a temperatura ambiente (20-28 °C) y deben mezclarse con suavidad. Debe evitarse la contaminación bacteriana de los reactivos almacenados.

Almacenamiento de los reactivos tras su utilización

Si no se utiliza todo el equipo de una vez, los reactivos deben guardarse en sus contenedores originales a 2-8°C. Guardados de este modo, los reactivos son estables hasta que expire la fecha impresa en la etiqueta de la caja.

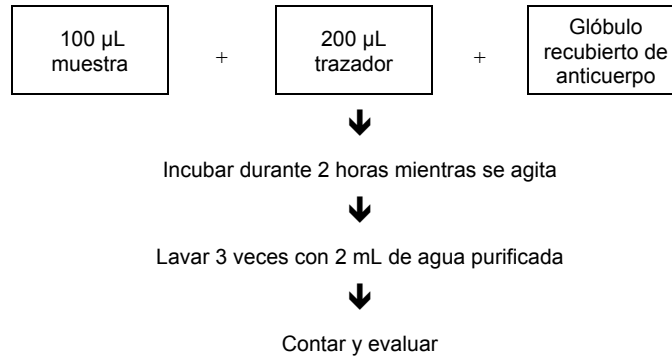
Procedimiento de ensayo

Realice cada determinación por duplicado.

1. Añada 100 µL de calibrador TPA[®]-M IRMA /suero del paciente/control TPA[®]-M IRMA a los tubos debidamente marcados.
2. Agregue 200 µL de trazador TPA[®]-M IRMA a cada tubo (la disolución tiene un color rojizo).
Para determinar las cuentas totales (T), agregue 200 µL de trazador a un tubo y cuente la radioactividad sin ningún otro proceso.
3. Añada un glóbulo de plástico a cada tubo utilizando fórceps de plástico o un dispensador de glóbulos.
4. Incube los tubos durante 2 horas a temperatura ambiente (20 - 28 °C) en un agitador (la velocidad óptima es de 200 rpm y la amplitud de 20 mm).

5. Lave cada glóbulo 3 veces con 2 mL de agua purificada.
6. Cuenten la radioactividad en un contador gamma.

Diagrama de flujo



Procesamiento de los resultados

Utilice un ordenador con un programa para el manejo de datos tipo IRMA con el fin de evaluar los niveles de TPA[®] en el suero de referencia y en el del paciente. De forma alternativa, las cuentas o la actividad relacionada (% B/T) pueden trazarse de forma manual frente a la concentración de analizado. Para este fin se recomienda utilizar papel para diagramas tipo log-log.

Control de calidad

Es recomendable que el laboratorio disponga de su propio juego de controles de calidad, además de los controles 1 y 2 de TPA[®]-M IRMA incluidos en el equipo.

Ejemplo de resultados

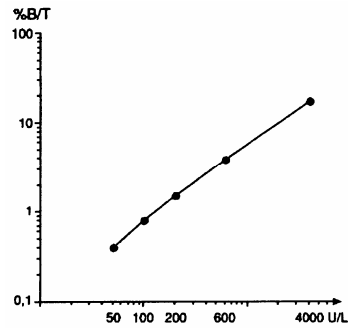
Esto es solo un **ejemplo** y no debe utilizarse para los cálculos.

Muestra	CPM	% B/T	TPA U/L
Total	408 992	–	–
B ₀	845	0,2	0
Calibrador 50	2 014	0,5	50
Calibrador 100	3 364	0,8	100
Calibrador 200	6 220	1,5	200
Calibrador 600	14 811	3,6	600
Calibrador 4000	59 945	14,7	4 000
Muestra del paciente 1	1 927	0,5	46
Muestra del paciente 2	8 110	2,0	274
Muestra del paciente 3	27 056	6,6	1 355

Para obtener resultados óptimos (B/T ~12% para calibrador 4000 U/L) la velocidad de agitado debe ser de 200 rpm y la amplitud de 20 mm.

Ejemplo de curva de calibrador

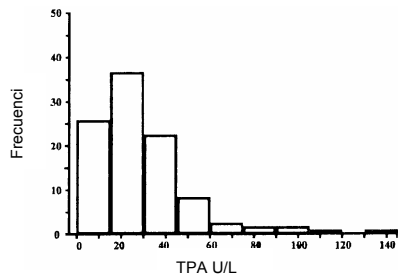
Esto es solo un **ejemplo** y no debe utilizarse en los cálculos.



Valores esperados y limitaciones del procedimiento

En un estudio de 400 individuos aparentemente sanos, se encontró que el 95% en la distribución logarítmica normal tenían valores de TPA® en suero inferiores a 75 U/L. La distribución se muestra en la figura adjunta.

Distribución de valores de TPA® en individuos sanos



Características de la prueba

Precisión

Media (U/L)	Coeficiente de variación	
	CV (%) intraensayo	CV (%) interserie
71	4,6	7,0
201	2,6	1,7
349	2,8	4,0
771	2,1	4,1
1 553	2,8	4,1

Sensibilidad

Valor mínimo de TPA[®] que puede medirse (valor $B_0 + 3 SD$) <15 U/L.

Rango de medición

El rango de medición del equipo TPA[®]-M IRMA alcanza hasta 4000 U/L.

Los valores por encima de 4000 U/L pueden medirse tras diluir la muestra con disolvente TPA[®]-M IRMA y repetir el ensayo.

 B_0/T

El valor B_0/T debe ser de <0,5%.

Uso previsto

Prolifigen® TPA®-M IRMA è un'analisi immunoradiometrica per la determinazione quantitativa di frammenti solubili di citocheratine 8, 18 e 19 nel siero o in altri liquidi corporei.

Principio della procedura

Prolifigen® TPA®-M IRMA è un'analisi immunoradiometrica a due siti monoclonale/policlonale (principio sandwich). Il campione viene incubato con una perla in plastica rivestita con anticorpo monoclonale e al TPA® viene aggiunto un anticorpo policlonale etichettato con iodio-125.

Avvertenze e precauzioni per gli utilizzatori

1. Avvertenze generali

- Questo prodotto è destinato esclusivamente all'uso diagnostico *in vitro*.
- Il kit non deve essere usato dopo la data di scadenza stampata sulla confezione.
- Non mescolare reagenti di lotti diversi.
- L'attendibilità dei risultati di questa analisi è direttamente correlata al grado di attenzione esercitata durante le operazioni con pipetta, Vortex, aspirazione e all'osservanza ai requisiti metodologici e alla temperatura.
- La sodio azide utilizzata come conservante in questo prodotto può provocare irritazione: evitare il contatto con la pelle e le mucose.
- Evitare contaminazioni microbiche dei reagenti.
- Osservare le normali precauzioni stabilite per la manipolazione dei reagenti di laboratorio.
- Lo smaltimento dei materiali di rifiuto dovrà essere conforme alle normative locali.
- I componenti del kit, come pure i sieri dei pazienti, dovranno essere considerati come potenzialmente infettivi e dovranno essere manipolati con le dovute precauzioni.
- A richiesta sono disponibili schede dati per la sicurezza dei materiali.

2. Materiale radioattivo

REAGENTI CONTENENTI IODIO-125

Questo kit contiene materiale radioattivo che non supera 27 µCi (1003 kBq) di iodio-125. Adottare precauzioni adeguate e le buone pratiche di laboratorio per la conservazione, la manipolazione e lo smaltimento di questo materiale.

Per i professionisti o gli istituti che utilizzano radioisotopi con una licenza generale:

Questo materiale radioattivo può essere consegnato, acquisito, conservato e usato unicamente da personale medico, veterinari abilitati alla pratica di medicina veterinaria, laboratori clinici o ospedali e unicamente per test *in vitro* clinici o di laboratorio che non prevedano la somministrazione interna o esterna del materiale, o di radiazioni da esso derivanti, su persone o animali. L'acquisto, il possesso, la conservazione, l'uso e il trasferimento sono soggetti alle norme e alla licenza generale della Nuclear Regulatory Commission statunitense dello stato con cui la Commissione ha stipulato un accordo per l'esercizio dell'autorità normativa.

1. La conservazione del materiale radioattivo deve essere limitata ad un'area specificatamente designata.
2. L'accesso ai materiali radioattivi deve essere limitato esclusivamente al personale autorizzato.
3. Non usare la bocca per versare con la pipetta materiale radioattivo.
4. Non mangiare o bere nelle aree di lavoro designate per materiale radioattivo.
5. Le zone dove possono verificarsi perdite devono essere pulite, quindi lavate con detergente alcalino o soluzione per la decontaminazione radiologica. Tutti gli oggetti in vetro usati devono essere accuratamente risciacquati con acqua prima di lavarli con altri oggetti in vetro del laboratorio.

Per i professionisti o gli istituti che utilizzano radioisotopi con una licenza specifica:
L'acquisto, l'uso, il trasferimento e lo smaltimento di materiali radioattivi sono soggetti alle norme e alle condizioni della licenza specifica.

AVVERTENZA: Questo prodotto contiene un prodotto chimico noto nello Stato della California per provocare cancro.

ATTENZIONE: La radioattività stampata sulle istruzioni allegate alla confezione può essere leggermente diversa dalla radioattività stampata sull'etichetta della scatola e sull'etichetta della fiala di tracciante. L'etichetta sulla scatola e sulla fiala di tracciante indicano la quantità effettiva di radioattività alla data di calibrazione, mentre il materiale informativo della confezione indica la radioattività teorica del kit.

Componenti del kit

In ogni kit vengono forniti i seguenti reagenti necessari per 100 provette:

- 1. Perle TPA[®]-M IRMA rivestite con anticorpo**
1 flacone contenente >100 perle secche rivestite con anticorpo anti-TPA monoclonale (di topo). Contiene sieroalbumina bovina (BSA).
- 2. Tracciante TPA[®]-M IRMA**
1 fiala da 21 mL contenente anticorpo anti-TPA policlonale etichettato con iodio-¹²⁵. Radioattività totale -1003 KBq (-27 µCi). Di colore rosso per facilitare l'identificazione. Contiene sieroalbumina bovina (BSA).
- 3. Calibratori TPA[®]-M IRMA**
6 fiale da 1 mL di calibratore TPA, rispettivamente in concentrazioni di 0, 50, 100, 200, 600 e 4000 U/L in tampone fosfato con BSA.
- 4. Diluente TPA[®]-M IRMA**
1 fiala da 2,5 mL contenente tampone fosfato con BSA.
- 5. Controlli 1 e 2 TPA[®]-M IRMA**
2 fiale da 1 mL contenenti TPA in tampone fosfato con BSA.
- 6. Rapporto per il controllo di qualità**

Nota: I reagenti 2, 3, 4 e 5 contengono <0,1% sodio azide come conservante.

Il kit Prolifigen[®] TPA[®]-M IRMA deve essere conservato alla temperatura di 2 - 8°C prima dell'uso.

Altri materiali necessari, non forniti in dotazione

- Provette in polistirene con base arrotondata (12 x 70-75 mm), monouso.
- Portaprovette.
- Micropipetta (100 µL) e microdosatori (200 µL).
- Acqua purificata come soluzione di lavaggio.
- Mixer Vortex.
- Dispositivo per il lavaggio delle perle, o dosatore a ripetizione da 2 mL per l'aggiunta del liquido di lavaggio e un aspiratore a vuoto.
- Agitatore orizzontale adatto per contenere il portaprovette.
Velocità ottimale circa 200 rpm.
- Contatore a raggi gamma impostato per iodio-¹²⁵. L'efficienza del contatore dovrà essere >40%.
- Forcipe in plastica o dispenser per versare le perle nelle provette.
- Attrezzature per la manipolazione e lo smaltimento di materiale radioattivo.
- Computer dotato di programma adatto (spesso integrato nel contatore a raggi gamma), o calcolatore e carta millimetrata, di tipo log-log, o RIA-mat[®] 280 per l'esecuzione completamente automatica del test.

Tracciabilità dei calibratori e dei controlli

I calibratori e i controlli del kit consistono di Antigene Poliipeptidico Tissutale (TPA). Il TPA deriva da materiale purificato e ben caratterizzato. I calibratori e i controlli sono calibrati in base a materiale TPA di riferimento interno.

Raccolta dei campioni, preparazione e conservazione

- I campioni di sangue dovranno essere prelevati prima della somministrazione di qualsiasi trattamento, sia esso iniziale o una ripetizione.
- Si consiglia l'uso di siero per la determinazione quantitativa di TPA®.
- Prelevare una quantità di sangue sufficiente per 2 x 100 µL di siero (campioni duplicati).
- Se i campioni verranno analizzati entro 24 ore, conservarli a 2 - 8°C. Se i campioni non verranno analizzati entro 24 ore, congelarli a una temperatura inferiore a -18°C. Una volta congelati, i campioni dovranno essere scongelati solo una volta.
- Non usare campioni fortemente lipemici, emolitici o contaminati.
- I campioni che dovessero contenere oltre 4000 U/L possono essere diluiti con il diluente TPA®-M IRMA per ottenere valori esatti. Il campione diluito dovrà essere mescolato delicatamente prima dell'analisi e nel calcolo finale si dovrà tenere conto del fattore di diluizione.
- I sieri congelati dovranno essere mescolati delicatamente dopo lo scongelamento.

Preparazione dei reagenti prima dell'uso

Prima di ogni uso, tutti i reagenti devono raggiungere la temperatura ambiente (20-28°C) e devono essere mescolati delicatamente. Evitare la contaminazione batterica dei reagenti conservati.

Conservazione dei reagenti dopo l'uso

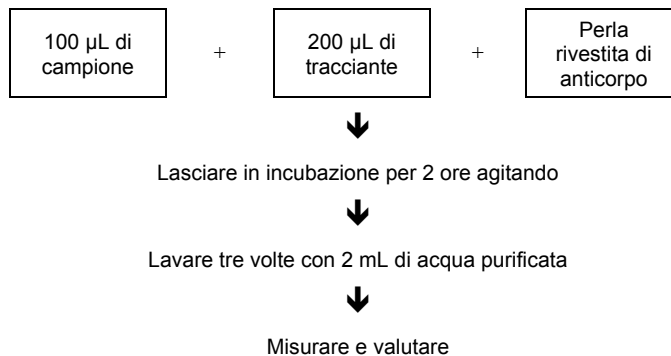
Se l'intero kit non viene utilizzato in una sola volta, i reagenti dovranno essere conservati nei loro contenitori originali a 2 - 8°C. I reagenti, così conservati, sono stabili fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta.

Procedura di analisi

Eeguire ogni determinazione in duplicato.

1. Aggiungere 100 µL di calibratore TPA®-M IRMA/siero del paziente/controllo TPA®-M IRMA in ogni provetta adeguatamente contrassegnata.
2. Aggiungere 200 µL di tracciante TPA®-M IRMA in ogni provetta (la soluzione ha un colore rosso).
Per stimare i conteggi totali (T), aggiungere 200 µL di tracciante in una provetta e misurare la radioattività senza eseguire ulteriori operazioni.
3. Aggiungere una perla in plastica in ogni provetta servendosi di un forcipe in plastica o di un dosatore.
4. Lasciare le provette in incubazione per 2 ore a temperatura ambiente (20 - 28°C) su un agitatore (velocità ottimale circa 200 rpm e ampiezza 20 mm).
5. Lavare ogni perla tre volte con 2 mL di acqua purificata.
6. Misurare la radioattività in un contatore a raggi gamma.

Diagramma della metodica



Elaborazione dei risultati

Utilizzare un computer dotato di programma per la gestione dei dati di tipo IRMA per valutare i livelli di TPA[®] nei sieri di riferimento e nei sieri del paziente. In alternativa, i conteggi o il legame (% B/T) possono essere tracciati a mano in rapporto alla concentrazione dell'analita. A tale scopo, si consiglia l'uso di carta millimetrata log-log.

Controllo di qualità

E' buona norma che il laboratorio disponga di una serie propria di Controlli di qualità, in aggiunta ai Controlli 1 e 2 TPA[®]-M IRMA forniti con il kit.

Esempio di risultati

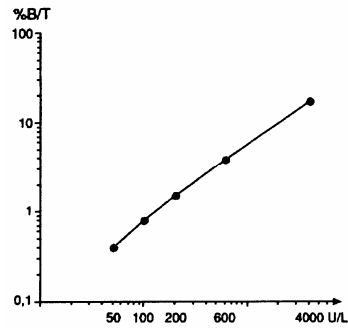
Quanto segue è solamente un **esempio** e non deve essere usato per i calcoli.

Campione	CPM	% B/T	TPA U/L
Totale	408 992	–	–
B ₀	845	0,2	0
Calibratore 50	2 014	0,5	50
Calibratore 100	3 364	0,8	100
Calibratore 200	6 220	1,5	200
Calibratore 600	14 811	3,6	600
Calibratore 4000	59 945	14,7	4 000
Campione paziente 1	1 927	0,5	46
Campione paziente 2	8 110	2,0	274
Campione paziente 3	27 056	6,6	1 355

Per ottenere risultati ottimali (B/T ~12% per il calibratore 4000 U/L) la velocità di agitazione deve essere di 200 g/min e l'ampiezza di 20 mm.

Esempio di Curva di calibrazione

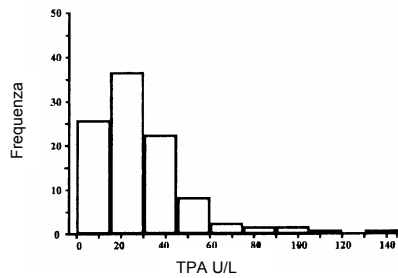
Quanto segue è solamente un **esempio** e non deve essere usato nei calcoli.



Valori previsti e limiti della procedura

In uno studio su 400 individui apparentemente sani, nel 95% nella distribuzione log normale sono stati rilevati valori TPA® nel siero inferiori a 75 U/L. La distribuzione è indicata nella figura che segue.

Distribuzione dei valori TPA® in individui sani



Caratteristiche del test

Precisione

Media (U/L)	Coefficiente di variazione	
	CV (%) durante l'analisi	CV (%) inter-analisi
71	4,6	7,0
201	2,6	1,7
349	2,8	4,0
771	2,1	4,1
1 553	2,8	4,1

Sensibilità

Valore di TPA minimo misurabile[®] (valore $B_0 + 3 SD$) <15 U/L.

Range di misurazione

Il range di misurazione del kit TPA[®]-M IRMA è fino a 4000 U/L.

Valori superiori a 4000 U/L possono essere misurati mediante diluizione del campione con diluente TPA[®]-M IRMA e ripetizione dell'analisi.

 B_0/T

Il valore B_0/T deve essere <0,5%.

Beregnet anvendelse

Prolifigen® TPA®-M IRMA er en immunoradiometrisk analyse til kvantitativ bestemmelse af opløselige fragmenter af cytotokeratin 8, 18 og 19 i serum og andre kropsvæsker.

Analysemetode

Prolifigen® TPA®-M IRMA er en to-punkts monoklonal/polyklonal immunoradiometrisk (sandwich) analyse. Prøverne inkuberes med en plastickugle, der er beklædt med et monoklonalt antistof, og der tilsættes et ¹²⁵I-mærket, polyklonalt antistof mod TPA®.

Advarsler og forholdsregler

1. Generelt

- Dette produkt er kun beregnet til *in vitro* diagnostik.
- Sættet må ikke anvendes efter udløbsdatoen, der er trykt på emballagen.
- Bland ikke reagenser fra forskellige varepartier.
- Nøjagtigheden af denne analyses resultater er afhængig af den omhu, der udvises under pipettering, centrifugering, sugning og overholdelse af metode og temperaturkrav.
- Natriumazid bruges som konserveringsmiddel og kan forårsage irritation: Undgå kontakt med hud og slimhinder.
- Undgå mikrobiel forurening af reagenserne.
- Overhold de almindelige forholdsregler for håndtering af laboratoriereagenser.
- Alt spildmateriale skal bortskaffes i henhold til lokale bestemmelser.
- Både sættets dele og patientsera skal behandles som potentielt infektiøst materiale, og passende forholdsregler skal overholdes under håndteringen af dem.
- Der kan bestilles sikkerhedsdatablade for materialerne.

2. Radioaktivt materiale

Reagenser indeholdende radioaktivt jod-125

Dette kit indeholder radioaktivt materiale, der ikke overskrider 27 µCi (1003 kBq) jod-125. Tag passende forholdsregler og overhold god laboratoriepraksis ved opbevaring, håndtering og bortskaffelse af dette materiale.

Til praktiserende læger eller institutioner, der modtager radioisotoper i h.t. en generel tilladelse:

Dette radioaktive materiale må kun modtages, erhverves, besiddes og anvendes af læger, praktiserende dyrlæger, kliniske laboratorier eller hospitaler, og kun til *in vitro*- eller laborietests, der ikke omfatter indgift eller påføring af materialet eller af stråling fra dette, til mennesker eller dyr. Modtagelse, erhvervelse, besiddelse, brug og videregivelse af dette materiale skal overholde bestemmelserne og den generelle tilladelse fra U.S. Nuclear Regulatory Commission, eller fra den stat, med hvilken kommissionen har indgået aftale om håndhævelsen af lovens krav.

1. Radioaktivt materiale må kun opbevares på et til formålet udpeget areal.
2. Adgang til radioaktivt materiale skal begrænses til særligt bemyndiget personale.
3. Afpipetter aldrig radioaktivt materiale med munden.
4. Drik eller spis aldrig på arbejdsarealer beregnet til arbejde med radioaktivt materiale.
5. Områder, hvor der kan forekomme spild, skal aftørres og derefter vaskes med et basisk rengøringsmiddel eller et særligt middel til dekontaminering af radiologisk materiale. Hvis der anvendes glasbeholdere, skal de skylles grundigt med vand, inden de vaskes op sammen med andet laboratorieudstyr af glas.

Til praktiserende læger eller institutioner, der modtager radioisotoper i h.t. en generel tilladelse:

For modtagelse, brug, videregivelse og bortskaffelse af radioaktivt materiale gælder bestemmelserne og vilkårene angivet i den pågældende tilladelse.

ADVARSEL: Dette produkt indeholder et stof, som staten Californien har fastslået kan forårsage kræft.

BEMÆRK: Indlægssedlens oplysninger vedr. radioaktivitet kan afvige en smule fra den radioaktivitet, der er trykt på æskens mærkat og på tracer-glassets mærkat. Mærkaten på æsken og etiketten på tracer-glasset angiver den konstaterede radioaktivitet på kalibreringstidspunktet, mens indlægssedlen angiver kittets teoretiske radioaktivitet.

Sættets indhold

Hvert prøvesæt til 100 reagensglas indeholder følgende reagenser:

1. **TPA[®]-M IRMA antistofbeklædte kugler**
1 flaske indeholder >100 tørre kugler, der er beklædt med monoclonale (fra mus) anti-TPA-antistoffer. Indeholder bovint serumalbumin (BSA).
2. **TPA[®]-M IRMA tracer**
1 hætteglas indeholder 21 mL ¹²⁵I-mærkede polyklonale anti-TPA-antistoffer. Total radioaktivitet -1003 KBq (-27 µCi). Farvet rødt så det er lettere at kende. Indeholder bovint serumalbumin (BSA).
3. **TPA[®]-M IRMA kalibratorer**
6 x 1 mL hætteglas med TPA kalibratorer, koncentrationer på henholdsvis 0, 50, 100, 200, 600 og 4000 UL i en fosfatbuffer med BSA.
4. **TPA[®]-M IRMA fortyndingsmiddel**
1x 2,5 mL hætteglas indeholdende fosfatbuffer med BSA.
5. **TPA[®]-M IRMA kontrolmateriale 1 og 2**
2 x 1 mL hætteglas der indeholder TPA i en fosfatbuffer med BSA.
6. **Kvalitetskontrolrapport**

Bemærk: Ovenstående reagens 2, 3, 4 og 5 indeholder <0,1% natriumazid som konserveringsmiddel.

Prolifigen[®] TPA[®]-M IRMA sættet skal opbevares ved 2 – 8 °C, indtil det skal bruges.

Nødvendigt materiale, der ikke medfølger:

- Reagensglas i polystyren med afrundet bund (12 x 70–75 mm), til engangsbrug.
- Stativ til reagensglas.
- Mikropipette (100 µL) og mikrodispensere (200 µL).
- Renset vand som skyllevæske.
- Hvirvelmikser.
- Kuglevaskesystem eller 2 mL åben dispenser til tilsætning af skyllevæske samt et vakuumsug.
- Vandret bordryster der passer til reagensglasstativer.
Optimal hastighed ca. 200 o/min.
- Gammatællersæt til ¹²⁵I-jod. Tællerens effektivitet skal være >40%.
- Plasticpincet eller kugledispenser til tilsætning af kugler til reagensglassene.
- Faciliteter til håndtering og bortskaffelse af radioaktivt materiale.
- Computer med passende program (ofte integreret i gammatæller) eller regnemaskine og millimeterpapir af typen log-log eller RIA-mat[®] 280 til fuldt automatiseret udførelse af testen.

Påviseligheden af kalibratorer og kontrolmateriale

Sættets kalibratorer og kontrolmateriale består af vævspolypeptidantigen (Tissue Polypeptide Antigen (TPA)). TPA'et stammer fra oprenset materiale med velkendte egenskaber. Kalibratorer og kontrolmateriale skal kalibreres mod internt TPA-referencemateriale.

Indsamling, forberedelse og opbevaring af prøver

- Blodprøver skal tages, før der gives behandling, hvad enten behandlingen gives første gang eller gentages.
- Det anbefales at anvende serum til kvantitativ bestemmelse af TPA®.
- Der bør indhentes nok blod til at udvinde 2 x 100 µL serum (dobbeltsprøve).
- Hvis prøven skal analyseres indenfor 24 timer, skal den opbevares ved 2 – 8 °C. Hvis prøven ikke skal analyseres indenfor 24 timer, skal den opbevares ved –18 °C. Når prøven først er frosset ned, må den kun optøs én gang.
- Brug ikke prøver med udpræget lipæmi, hæmolyse eller som er forurenede.
- Prøver, der indeholder over 4000 U/L, kan fortyndes med TPA®-M IRMA fortyndingsmiddel for at opnå en nøjagtig værdi. De fortyndede prøver skal rystes forsigtigt, før de analyseres, og fortyndingsfaktoren skal tages i betragtning ved den endelige beregning.
- Frossen sera skal blandes forsigtigt efter optøningen.

Klargøring af reagenser

Før brug skal alle reagenser stå til de får stuetemperatur (20-28 °C), hvorefter de blandes forsigtigt. Undgå bakteriel forurening af de opbevarede reagenser.

Opbevaring af reagenser efter brug

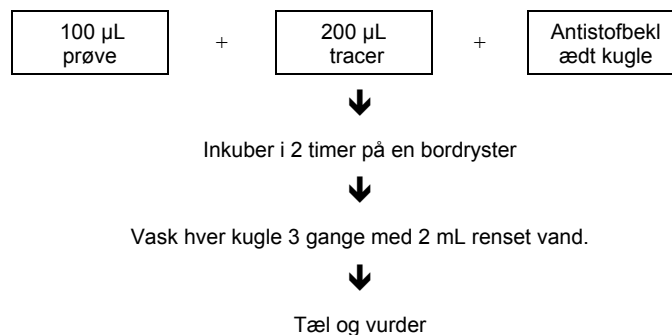
Hvis hele sættet ikke anvendes med det samme, skal reagenserne opbevares i den originale beholder ved 2 – 8 °C. Hvis de opbevares således, er reagenserne holdbare indtil udløbsdatoen, der er trykt på æskens etiket.

Analysemetode

Hver bestemmelse skal udføres to gange.

1. Tilsæt 100 µL TPA®-M IRMA kalibrator/patientserum/TPA®-M IRMA kontrolmateriale til hvert korrekt afmærket reagensglas.
2. Tilsæt 200 µL TPA®-M IRMA tracer til hvert reagensglas (opløsningen bliver rød). For at beregne den totale tælling (T) tilsættes 200 µL tracer til et reagensglas, og radioaktiviteten tælles, uden at der gøres yderligere.
3. Tilsæt en plastikugle til hvert reagensglas ved hjælp af plasticpincetten eller kugledispenseren.
4. Inkuber reagensglassene i 2 timer ved stuetemperatur (20 – 28 °C) på en bordryster. (Optimal hastighed ca. 200 o/min. og amplitude 20 mm)
5. Vask hver kugle 3 gange med 2 mL rensset vand.
6. Tæl radioaktiviteten i en gammataæller.

Flowdiagram



Behandling af resultater

Brug en computer med et program, der kan behandle data af typen IRMA, til at vurdere TPA[®] niveauerne i referencesera og patientsera. Tællingerne eller den bundne aktivitet (% B/T) kan også plottes ind manuelt mod analytkoncentrationen. Det anbefales at anvende millimeterpapir af typen log-log til dette formål.

Kvalitetskontrol

Det anbefales at hvert laboratorium bruger deres egne sæt af kontrolmaterialer til kvalitetskontrol ud over de TPA[®]-M IRMA kontrol 1 og 2, der leveres med hvert sæt.

Eksempler på resultater

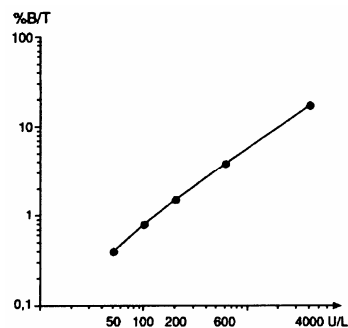
Dette er kun et eksempel og må ikke bruges i beregningerne.

Prøve	CPM	% B/T	TPA U/l
Total	408 992	–	–
B ₀	845	0,2	0
Kalibrator 50	2 014	0,5	50
Kalibrator 100	3 364	0,8	100
Kalibrator 200	6 220	1,5	200
Kalibrator 600	14 811	3,6	600
Kalibrator 4000	59 945	14,7	4 000
Patientprøve 1	1 927	0,5	46
Patientprøve 2	8 110	2,0	274
Patientprøve 3	27 056	6,6	1 355

For at opnå de bedste resultater (B/T ~12% for kalibrator 4000 U/L) skal rystehastigheden være 200 o/min og amplituden 20 mm.

Eksempel på kalibratorkurve

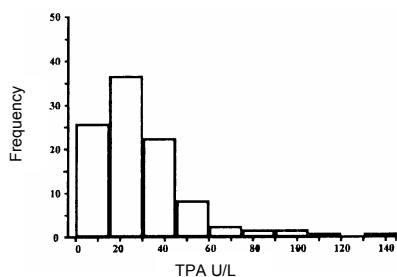
Dette er kun et eksempel og må ikke bruges i beregningerne.



Forventede værdier og procedurens begrænsninger

I en undersøgelse af 400 tilsyneladende raske individer fandtes det, at 95% i lognormal fordelingen havde serum TPA[®] værdier under 75 U/L. Denne fordeling vises i nedenstående figur.

Fordelingen af TPA® værdier i raske individer



Testens karakteristika

Præcision

Gennemsnit (U/L)	Variationskoefficient (%)	
	CV (%) indenfor kørslen	CV (%) mellem kørsler
71	4,6	7,0
201	2,6	1,7
349	2,8	4,0
771	2,1	4,1
1 553	2,8	4,1

Sensitivitet

Mindste målelige TPA® værdi (B_0 værdi + 3 SD) <15 U/L.

Måleområde

TPA®-M IRMA sættets måleområde er op til 4000 U/L.

Værdier over 4000 U/L kan måles, hvis prøven fortyndes med TPA®-M IRMA fortyndingsmiddel, og analysen gentages.

B_0/T

B_0/T værdien skal være <0,5%.

Avsedd användning

Prolifigen® TPA®-M IRMA är en immunradiometrisk assay för kvantitativ mätning av lösliga fragment av cytokeratin 8, 18 och 19 i serum eller andra kroppsvätskor.

Principer för proceduren

Prolifigen® TPA®-M IRMA är en tvåställes monoklonal/polyklonal immunradiometrisk (sandwich) assay. Provet inkuberas med en plastpärla belagd med monoklonal antikropp och ¹²⁵I-märkt polyklonal antikropp för TPA® tillsätts.

Varningar och försiktighetsåtgärder för användare

1. Allmänt

- Denna produkt är endast för *in vitro*-diagnostik.
- Denna sats får inte användas efter det utgångsdatum som finns på förpackningen.
- Reagens från skilda masterlot får ej blandas.
- Noggrannheten på resultaten från denna assay är direkt beroende av noggrannheten vid pipettering, vortexblandning och aspiration samt att krav på metodologi och temperatur följs.
- Natriumazid som är ett konserveringsmedel i denna produkt kan orsaka irritation: undvik kontakt med hud och slemhinnor.
- Undvik mikrobiell förorening av reagenser.
- Tillämpa normala försiktighetsåtgärder som krävs för hantering av alla laboratoriereagenser.
- Kassering av allt avfall skall ske enligt gällande lokala bestämmelser.
- Komponenterna i satsen samt patientens serum ska anses vara potentiellt smittförande och ska hanteras med lämpliga försiktighetsåtgärder.
- Materialdatablad kan erhållas på begäran.

2. Radioaktivt material

REAGENS SOM INNEHÅLLER JOD-125

Satsen innehåller radioaktivt material som ej överstiger 27 µCi (1003 kBq) jod-125. Adekvata försiktighetsåtgärder måste vidtas och god laboratoriepraxis följas vid förvaring, hantering och kassering av detta material.

För mottagningar och institutioner som tar emot radioisotoper under en allmän licens:

Detta radioaktiva material får endast tas emot, förvärvas, ägas och användas av läkare, veterinärer med praktik inom veterinärmedicin, kliniska laboratorier eller sjukhus, och får endast användas för kliniska tester *in vitro* eller laboratorietester *in vitro*, vilka ej innebär någon invärtes eller utvärtes administrering av materialet, eller av strålning från det, till människor eller djur. För mottagande, förvärv, innehav, användning och överlåtelse gäller de regler och den allmänna licens som utfärdats av den amerikanska Nuclear Regulatory Commission eller av den stat med vilken kommissionen har ingått ett avtal för utövande av regulatorisk myndighet.

1. Radioaktivt material får endast förvaras på en speciellt avsedd plats.
2. Endast auktoriserad personal får ha tillgång till radioaktivt material.
3. Pipettera aldrig radioaktivt material med munnen.
4. Undvik att äta eller dricka i lokaler där radioaktivt material används.
5. Ytor där spill kan förekomma skall torkas av och därefter rengöras med ett alkaliskt rengöringsmedel eller radiologisk dekontamineringslösning. Alla glasvaror som används måste sköljas noga med vatten innan de diskas tillsammans med andra glasvaror för laboratoriebruk.

För mottagningar och institutioner som tar emot radioisotoper under en specifik licens:

När ni tar emot, använder, överlåter och kasserar radioaktivt material gäller reglerna och villkoren i er specifika licens.

WARNING! Produkten innehåller en kemikalie som enligt staten Kalifornien är känd för att orsaka cancer.

OBSERVERA! Den radioaktivitet som anges på bipacksedeln kan skilja sig något från den aktivitet som anges på etiketterna på kartongen och på flaskan med spårämnet. Etiketterna på kartongen och på flaskan med spårämnet anger den verkliga radioaktivitetsmängden vid kalibreringsdatum, medan bipacksedeln anger den teoretiska radioaktiviteten för satsen.

Satsens komponenter

Följande reagenser levereras med varje testsats för 100 assay-rör:

1. **TPA[®]-M IRMA antikroppbelagda pärlor**
1 flaska med >100 torra pärlor belagda med monoklonala (mus) anti-TPA-antikroppar. Innehåller bovint serumalbumin (BSA).
2. **TPA[®]-M IRMA spårämne**
1 flaska med 21 mL ¹²⁵Jodmärkt polyklonal anti-TPA-antikropp. Total radioaktivitet -1003 KBq (-27 µCi). Rödfärgad för att underlätta identifikation. Innehåller bovint serumalbumin (BSA).
3. **TPA[®]-M IRMA kalibratorer**
6 x 1 mL flaskor TPA kalibratormaterial. Koncentrationen 0, 50, 100, 200, 600 respektive 4000 U/L i fosfatbuffert med BSA.
4. **TPA[®]-M IRMA spädningsmedel**
1x 2,5 mL flaska med fosfatbuffert och BSA.
5. **TPA[®]-M IRMA kontroll 1 och 2**
2 x 1 mL flaskor med TPA i fosfatbuffert med BSA.
6. **Kvalitetskontrollrapport**

Obs: Reagenserna 2, 3, 4 och 5 ovan innehåller <0,1 % natriumazid som konserveringsmedel.

Prolifigen[®] TPA[®]-M IRMA satsen ska förvaras vid 2 – 8 °C före användning.

Annat material som krävs, men ej tillhandahålls

- Polystyrenprovorrör med rund botten (12 x 70–75 mm), engångstyp.
- Provrörsställ.
- Mikropipett (100 µL) och mikrodispenser (200 µL).
- Renat vatten som tvättvätska.
- Vortex-blandare.
- Pärltvättsystem, eller 2 mL repeter-dispenser för tillsats av tvättvätska och en vakuumaspirationsenhet.
- Horisontell skakare lämplig för att hålla provrörsställ.
Optimalt varvtal cirka 200 varv/min.
- Gamma-räknare inställd på ¹²⁵Jod. Räknarens verkningsgrad ska vara >40 %.
- Plastpincett eller lämpligt verktyg för att tillsätta pärlor i rör.
- Utrustning för hantering och avfallshantering av radioaktivt material.
- Dator med lämpligt program (ofta inbyggt i gamma-räknaren) eller handräknare och diagrampapper, av log-log-typ, eller RIA-mat[®] 280 för helautomatiskt utförande av testet.

Spårbarhet för kalibratorer och kontroller

Kalibratorerna och kontrollerna i satsen består av TPA (Tissue Polypeptide Antigen). Detta TPA kommer från renat och välkarakteriserat material. Kalibratorer och kontroller kalibreras mot företagsinternt referens-TPA-material.

Provtagning, provhantering och förvaring

- Blodprover ska tas innan eventuell behandling ges, antingen vid första eller upprepad behandling.
- Serum rekommenderas för kvantitativ bestämning av TPA®.
- Tillräckligt med blodprov ska tas för 2 x 100 µL serum (duplikatprover).
- Om provet inte testas inom 24 timmar ska det förvaras vid 2 – 8 °C. Om provet inte testas inom 24 timmar ska det frysas till under –18 °C. När proverna frusits ska de endast tinas upp en gång.
- Använd inte prover som är kraftigt lipemiska, hemolyserade eller förorenade.
- Prover för vilka det konstaterats att de har över 4000 U/L kan spädas med TPA®-M IRMA spädningsmedel för att få ett exakt värde. Det spädda provet ska blandas försiktigt före test och spädningsfaktorn ska tas med i slutberäkningen.
- Fruset serum ska blandas försiktigt efter upptining.

Förbereda reagenser före användning

Alla reagenser måste anta rumstemperatur (20-28 °C) och blandas försiktigt, innan de används. Bakteriell förorening av lagrade reagenser måste undvikas.

Förvaring av reagenser efter användning

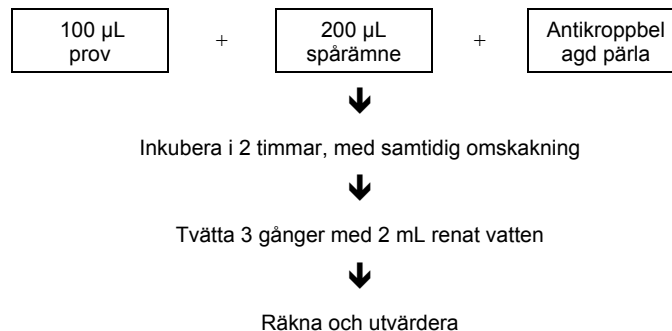
Om hela satsen inte används vid ett tillfälle ska reagenserna förvaras i ursprunglig behållare vid 2 – 8 °C. Reagenser som sparats på detta sätt är hållbara till det utgångsdatum som anges på förpackningens etikett.

Testprocedur

Utför varje bestämning i duplikat.

1. Tillsätt 100 µL TPA®-M IRMA kalibrator/patientserum/TPA®-M IRMA kontroll i varje rätt märkt rör.
2. Tillsätt 200 µL TPA®-M IRMA spårämne i varje rör (lösningen har röd färg). För att uppskatta totalantalet (T), tillsätt 200 µL spårämne i ett rör och räkna radioaktivitet, utan ytterligare behandling.
3. Tillsätt en plastpärla i varje rör med plastpincett eller annat lämpligt redskap.
4. Inkubera rören i 2 timmar vid rumstemperatur (20 – 28 °C) i en skakare. (Optimalt varvtal cirka 200 varv/min och amplitud 20 mm).
5. Tvätta varje pärla 3 gånger med 2 mL renat vatten.
6. Räkna radioaktivitet i en gamma-räknare.

Flödesschema



Bearbetning av resultat

Använd en dator med ett program för hantering av data av IRMA-typ, för att utvärdera TPA[®]-nivåerna i referensserum och patientserum. Alternativt kan antal eller bunden aktivitet (% B/T) upprättas manuellt som funktion av analytkoncentration. För detta rekommenderas diagrampapper av log-log-typ.

Kvalitetskontroll

Vi rekommenderar att laboratoriet har sin egen uppsättning QC-kontroller, förutom TPA[®]-M IRMA kontroll 1 och 2 som ingår i satsen.

Exempel på resultat

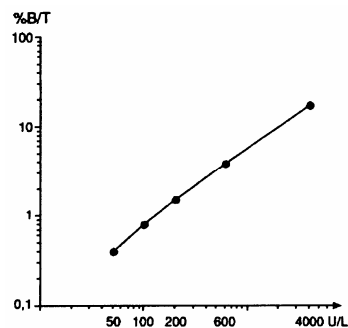
Detta är endast ett **exempel** och ska inte användas i beräkningar.

Prov	CPM	% B/T	TPA U/L
Total	408 992	–	–
B ₀	845	0,2	0
Kalibrator 50	2 014	0,5	50
Kalibrator 100	3 364	0,8	100
Kalibrator 200	6 220	1,5	200
Kalibrator 600	14 811	3,6	600
Kalibrator 4000	59 945	14,7	4 000
Patientprov 1	1 927	0,5	46
Patientprov 2	8 110	2,0	274
Patientprov 3	27 056	6,6	1 355

För att få optimala resultat (B/T ~12 % för kalibrator 4000 U/L) ska skakvarvtalet vara 200 varv/min och amplituden 20 mm.

Exempel på kalibratorkurva

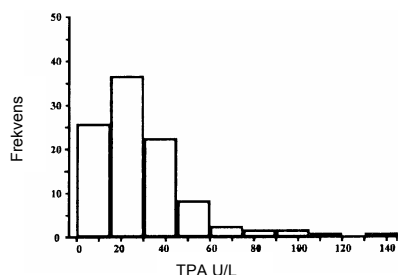
Detta är endast ett **exempel** och ska inte användas i beräkningar.



Förväntade värden och begränsningar för proceduren

I en studie med 400 till synes friska individer konstaterades 95 % i den lognormala fördelningen ha serum-TPA[®]-värden mindre än 75 U/L. Fördelningen visas i nedanstående figur.

Fördelning av TPA[®]-värden i friska individer



Testegenskaper

Precision

Variationskoefficient		
Medelvärde (U/L)	CV (%) inom serie	CV (%) mellan serier
71	4,6	7,0
201	2,6	1,7
349	2,8	4,0
771	2,1	4,1
1 553	2,8	4,1

Känslighet

Minsta mätbara TPA[®]-värde (B_0 värde + 3 SD) <15 U/L.

Mätområde

Mätområdet för TPA[®]-M IRMA satsen är upp till 4000 U/L.

Värden över 4000 U/L kan mätas efter spädning av provet med TPA[®]-M IRMA spädningsmedel och upprepning av testet.

B_0/T

B_0/T -värdet ska vara <0,5 %.

Felhasználási terület

Prolifigen® TPA®-M IRMA egy immunoradiometrikus assay a citokeratin 8, 18, 19 oldodo fragmentumainak kvantitatív meghatározására szérumból és egyéb testnedvekből.

A meghatározás elve

Prolifigen® TPA®-M IRMA egy kétlépeses monoklonális/poliklonális immunoradiometrikus (szendvics) assay. A minta együtt kerül inkubálásra a bevonatos csóhoz kötött monoklonális és a ¹²⁵I-tel jelölt poliklonális antitesttel.

Figyelmeztetések és ovintézkedések

1. Általános

- A termék kizárolag in vitro diagnosztikai használatra készült.
- A készletet tilos a csomagoláson feltüntetett lejárati ido után használni.
- Ne keverje össze a különbozo LOT számú reagenseket.
- Az eredmények megbízhatósága közvetlenül összefügg a pipettázás, vortexelés leszívás eloirásainak betartásával és a homérsékleti körülmények biztosításával.
- A készlet néhány eleme sodium-azid-ot tartalmaz, mely irritációt okozhat: nyálkahártyával vagy borrel érintkezve.
- Esetleges mikrobális szennyezettség.
- Tartsa be a laboratoriumi munkára vonatkozó általános eloirásokat.
- A hulladékkezelésre a helyi szabályozások adnak irányelvet.
- A készlet egyes komponenseit, mint potenciális fertozoforrást kell kezelni.

2. Radioaktív anyagok

I-125 TARTALMU REAGENSEK

Ez a készlet olyan I-125 tartalmu anyagokat tartalmaz, melyek radioaktivitása nem haladja meg a 27 µCi (1003 kBq) értéket. Helyes elokészítés és megfelelő laboratoriumi gyakorlat szukséges az anyagok tárolásánál, kezelésénél és a hulladékkezelésnél.

Egyetemes szabályok radioizotopok kezeléséhez:

Ezeket a radioaktív anyagokat csak orvosok, vagy állatorvosok szerezhetik be, birtokolhatják és használhatják humán és állat gyógyászatban, klinikai laboratoriumokban, vagy kórházakban kizárolag in vitro klinikai, vagy laboratoriumi tesztekben, melyek nem foglalják magukban a humán, illetve állati szervezet kulso, vagy belso kezelését, arra irányuló sugárzást. Ezen termékek beszerzése, birtoklása, használata szállítása a U.S. Nuclear Regulatory Commission szabályozása alá esik.

1. A radioaktív anyagokat korulhatárolt, speciálisan jelölt területen kell tárolni.
2. A radioaktív anyagokhoz csak arra jogosult személyek férhetnek.
3. Tilos a radioaktív anyagok szájjal történő pipettázása.
4. A radioaktív munkához kijelölt területen enni és inni tilos.
5. A területet ahová radioaktív anyag löttyen ki fel kell torolni, majd alkali detergennsel, vagy radioaktivitást dekontamináló oldattal kell felmosni. Az uvegedényeket alaposan ki kell obliterálni vízzel mielőtt más laboratoriumi edénnyel együtt kerülne mosásra.

A radioaktív anyagok kezelésénél a következő speciális szabályok érvényesek:

A radioaktív anyagok kezelésének, használatának, szállításának és hulladékkezelésének szabályozása saját szabályozás alá esik.

FIGYELMEZTETÉS: A készlet olyan vegyületeket tartalmaz melyek rákkelto hatása ismert.

FIGYELMEZTETÉS: A csomagolás mellékletén feltüntetett radioaktivitás érték némileg eltér a dobozon és a tracer üvegcsé címkéjén feltüntetett radioaktivitás értékektől. A dobozon és a traceres üveg címkéjén feltüntetett érték a kalibráció idején mért aktuális radioaktivitást mutatja, míg a csomagolás mellékletént feltüntetett érték a készlet teoretikus radioaktivitását adja meg.

A készlet tartalma

Valamennyi teszt a következő reagenseket tartalmazza 100 csobhoz:

- 1. TPA[®]-M IRMA antitest bevonatos golyó**
1 üveg több mint 100 száraz, monoklonális (egér) anti-TPA antitesttel bevonva. Marha szérum albumint tartalmaz (BSA).
- 2. TPA[®]-M IRMA Tracer**
1 üveg 21 mL ¹²⁵I-tel jelölt poliklonális anti-TPA antitestet tartalmaz. Totál radioaktivitása -1003 KBq (-27 µCi). Piros színű a könnyebb megkülönböztethetőséghez. Marha szérum albumint tartalmaz (BSA).
- 3. TPA[®]-M IRMA Kalibrátorok**
6 x 1 mL üveg TPA kalibrátor; koncentrációk: 0, 50, 100, 200, 600 és 4000 U/L Foszfát pufferben és BSA-ban.
- 4. TPA[®]-M IRMA Hígító**
1 x 2.5 mL üveg, foszfát puffer és BSA.
- 5. TPA[®]-M IRMA Kontroll 1 és 2**
2 x 1 mL üveg, foszfát pufferben és BSA-ban.
- 6. Minoségi jegyzet**

Jegyzet: A 2, 3, 4 és 5. reagens <0. 1% sodium-azid-ot tartalmaz tartósítószerként.

A Prolifigen[®] TPA[®]-M IRMA készletet használat előtt 2 – 8 °C-on kell tárolni.

Egyéb szükséges anyagok

- Polisztirol teszt csövek (12 x 70–75 mm), rendelkezésre áll.
- Teszt cső tartó rack.
- Mikropipetta (100 µL) és mikroadagoló (200 µL).
- Desztillált víz mosofolyadéknak.
- Vortex mixer.
- Gyöngyöző rendszer, vagy 2 mL-es ismétlődő adagoló a mosó folyadék hozzáadásához és vákuummal leszívó a folyadék eltávolításához.
- Horizontális rázó mely képes a mintatartó rack-ek rogzítására. Optimális sebesség 200 rpm.
- ¹²⁵I mérésére alkalmas gammaszámláló.
- Muanyag csipesz, vagy automata gyöngyadagoló.
- Megfelelő programmal rendelkező számítógép (gammaszámlálóval integrált), vagy számológép és log-log milliméterpapír, vagy RIA-mat[®] 280 teljes automata analízátor rendszer.

Kalibrátorok és kontrollok kimutathatósága

A készlet kalibrátorai és kontrolljai Szöveti Polipeptid Antigén (TPA)-t tartalmaznak. Ez a TPA egy tisztított, jól karakterizált anyag.

Mintavétel, mintatípus és tárolás

- A vérmintát a kezelés megkezdése előtt kell venni, vagy az elején és ismételni.
- A TPA[®] kvantitatív meghatározásához humán szérum szükséges
- Ez elégséges minta mennyiség 2 x 100 µL szérum (duplikált mérés).
- Ha a minta mérése 24 órán belül történik, tárolja 2 – 8 °C-on. Ha a meghatározás 24 órán túl történik, tárolja -18 °C-on a mintát. A minta egyszeri fagyasztása-olvasztása megengedett.
- Ne használjon hemolizált, lipémiás, vagy szennyezett mintát.

- A 4000 U/L-nél nagyobb TPA tartalmu mintákat hígítsa TPA[®]-M IRMA Hígítóval, a mérhető eredmény eléréséhez. A meghatározás előtt alaposan keverje össze, majd a kiértékelésnél vegye figyelembe a hígítási faktort.
- A fagyasztott mintát felolvasztás után alaposan keverje össze.

Reagensek elokészítése használat előtt

Használat előtt hozza valamennyi komponenst szobahőmérsékletre (20-28 °C) és alaposan keverje össze. Kerülje el a reagensek tárolás alatti bakteriális szennyeződését.

Reagensek tárolása használat után

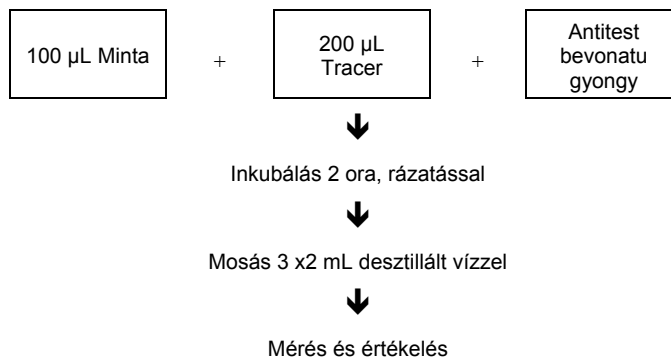
Amennyiben a készlet komponenseit nem használja fel egyszerre, akkor azokat 2 – 8 °C-on tárolja az eredeti csomagolásban. A reagensek így módon tárolva a doboz címkéjén feltüntetett lejárati ideig stabilak.

Teszt protokoll

Valamennyi meghatározást duplikátumban végezze.

1. Pipetázzon 100 µL TPA[®]-M IRMA Kalibrátort/beteg szérumot/TPA[®]-M IRMA Kontrollt valamennyi jelölt csobe.
2. Adjon 200 µL TPA[®]-M IRMA Tracer-t valamennyi csobe (az oldat piros színű). A totál beütésszám meghatározásához (T) adjon 200 µL Tracer-t üres csovekbe.
3. Adjon minden csobhoz antitesttel bevont gyongyot muanyag csipesszel, vagy gyongyadagolóval.
4. Inkubálja a csoveket, 2 órát szobahőmérsékleten (20 – 28 °C) rázatással. (Optimális rázás: 200 rpm, 20 mm amplitudo).
5. Mossa minden csövet 3x2 mL desztillált vízzel.
6. Mérje le a radioaktivitást gammaszámlálóval.

Folyamat ábra



Eredmény meghatározás

Számítógéppel IRMA típusu adat számítással határozható meg a kontrollok és minták TPA[®] szintje. Esetleg a kötött, illetve mért aktivitás (% B/T) ábrázolható a koncentráció függvényében. Ehhez használjon log-log milliméterpapírt.

Minőségbiztosítás

Ajánlott a laboratóriumok számára saját QC kontroll használata, a TPA[®]-M IRMA Kontroll 1 és 2-t a készlet tartalmazza.

Példa eredményekre

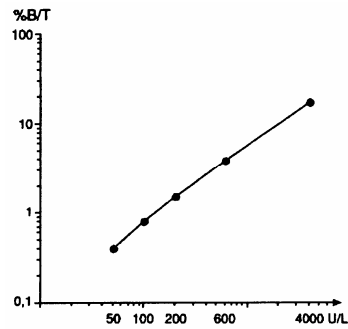
Ez csak egy példa, ne használja a számításhoz.

Minta	CPM	% B/T	TPA U/L
Totál	408 992	–	–
B ₀	845	0.2	0
Kalibrátor 50	2 014	0.5	50
Kalibrátor 100	3 364	0.8	100
Kalibrátor 200	6 220	1.5	200
Kalibrátor 600	14 811	3.6	600
Kalibrátor 4000	59 945	14.7	4 000
Beteg minta 1	1 927	0.5	46
Beteg minta 2	8 110	2.0	274
Beteg minta 3	27 056	6.6	1 355

Az optimális eredmény eléréséhez (B/T ~12% kalibrátor 4000 U/L) szükséges a megfelelő (200 rpm és 20 mm amplitudoju) rázatás.

Példa kalibrációs gorbére

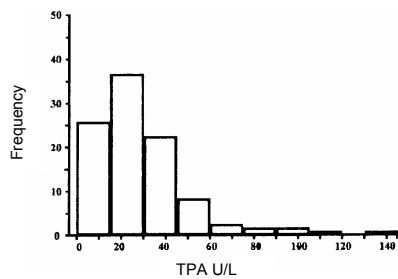
Ez csak egy példa, ne használja a számításhoz.



Vért eredmény és a meghatározás korlátai

Egy 400 fős egészségesnek feltételezett pácienscsoportot vizsgálva az eloszlás 95%-os percentilise 75 U/L alattinak adott TPA[®] értékre szérumból. Az eloszlást az alábbi ábra mutatja.

TPA[®] értékek eloszlása egészséges populációban



Teszt jellemzés

Precízió

Variációs koefficiens		
Átlag (U/L)	CV (%) sorozaton belül	CV (%) sorozatok között
71	4.6	7.0
201	2.6	1.7
349	2.8	4.0
771	2.1	4.1
1 553	2.8	4.1

Szenzitivitás

Minimálisan mérhető TPA[®] érték (B_0 érték + 3 SD) <15 U/L.

Mérési tartomány

A TPA[®]-M IRMA készlet mérési tartomány a 4000 U/L-ig terjed.

A 4000 U/L feletti értéket mutató mintákat TPA[®]-M IRMA Hígítóval kell meghígítani és megismételni a mérést.

B_0/T

A B_0/T érték <0.5%.

Použití soupravy

Prolifigen® TPA®-M IRMA je imunoradiometrická souprava pro stanovení rozpustných fragmentů cytokeratinů 8, 18 a 19 v séru a jiných tělesných tekutinách.

Princip standovení

Prolifigen® TPA®-M IRMA je imunoradiometrické stanovení s využitím dvou vazebných míst (sendvičové uspořádání) prostřednictvím dvou protilátek – monoklonální a polyklonální. Vzorek se inkubuje s plastovou kuličkou potaženou monoklonální protilátkou, načež se přidá polyklonální protilátka proti TPA značená ¹²⁵I.

Upozornění pro uživatele

1. Obecné

- Tento výrobek je určen pouze pro diagnostické použití in vitro.
- Souprava nesmí být používána po datu expirace uvedeném na obalu.
- Nemíchejte reagentie ze souprav různých šarží.
- Přesnost výsledků tohoto stanovení je přímo závislá na stupni přesnosti pipetování, míchání, odsávání a dodržování požadavků na pracovní postup a teplotu.
- Azid sodný použitý v tomto produktu jako konzervans může způsobit podráždění, zamezte se tedy kontaktu s kůží a sliznicemi.
- Vyvarujte se mikrobiální kontaminace reagentií.
- Dodržujte obecně známá pravidla pro manipulaci s laboratorními reagentiemi.
- Likvidace odpadu musí být v souladu s platnými předpisy.
- Reagentie soupravy i vzorky pro analýzu jsou potenciálně infekční materiál a je proto nutné dodržovat patřičná bezpečnostní opatření.
- Bezpečnostní listy k soupravě jsou k dispozici na vyžádání.

2. Radioaktivní materiál

- Radioaktivní materiál není určen pro použití u člověka. Je zakázáno jej začlenit do potravin, nápojů, kosmetiky, léčiv nebo léčivých přípravků nebo do produktů vyrobených pro komerční použití.
- Radioaktivní materiál musí být skladován na přesně vyhrazeném místě v původním obalu. Veškeré práce musí provádět na určených pracovních místech příslušně vyškolení a k tomu určení pracovníci v souladu s místními předpisy.
- Radioaktivní materiály nepipetujte ústy.
- Na určeném pracovním místě nejezte, nepijte nebo nekuřte.
- Při zacházení s radioaktivními materiály používejte ochranné rukavice, poté si ruce důkladně umyjte.
- Rozlité materiály rychle uklidte a přeneste je do vhodné odpadní nádoby. Veškeré kontaminované plochy umyjte pomocí vhodného roztoku saponátu.
- Materiál značený v této soupravě radionuklidem ¹²⁵I by měl být zneškodněn v souladu s místními a národními předpisy pro likvidaci radioaktivního materiálu. Před likvidací zničte všechny značky varující před radiací.

Pro profesionály a instituce, kterým jsou dodávány radioizotopy podle všeobecné licence:

- Tento radioaktivní materiál mohou nabývat, získat, přechovávat a používat pouze lékaři, klinické laboratoře nebo nemocnice s příslušnými povoleními a pouze pro diagnostické použití in vitro, které nezahrnuje vnitřní nebo vnější podání materiálu nebo záření z něj vycházejícího lidem nebo zvířatům. Jeho nabývání, získání, přechovávání, použití a přeprava se řídí národními předpisy a nařízeními

Reagencie

Následující reagencie jsou dodávány s každou soupravou pro stanovení ve 100 zkumavkách.

- 1. Kuličky potažené protilátkou TPA[®]-M IRMA (Antibody-coated beads)**
1 lahvička obsahující minimálně 100 suchých kuliček potažených myší monoklonální protilátkou proti TPA. Obsahuje bovinní sérový albumín (BSA).
- 2. Radioindikátor TPA[®]-M IRMA (Tracer)**
1 lahvička obsahující 21 ml polyklonální protilátky proti TPA značené ¹²⁵I. Celková radioaktivita je nižší nebo rovna 1003 kBq (27 µCi). K usnadnění identifikace je roztok obarven červeně. Obsahuje bovinní sérový albumín (BSA).
- 3. Standardy TPA[®]-M IRMA (Calibrators)**
6 x 1 ml lahvička standardu TPA, koncentrace 0, 50, 100, 200, 600 a 4000 U/litr ve fosfátovém pufru s BSA.
- 4. Diluent TPA[®]-M IRMA (Diluent)**
1 x 2,5 ml lahvička obsahující fosfátový pufr s BSA.
- 5. Kontroly TPA[®]-M IRMA, 1 a 2 (Controls 1 a 2)**
2 x 1 ml lahvička obsahující TPA ve fosfátovém pufru s BSA.
- 6. Zpráva o kontrole kvality (Quality control report)**

Upozornění:

Reagencie 2, 3, 4 a 5 obsahují < 0,1 % azidu sodného jako konzervans.

Souprava Prolifigen[®] TPA-M IRMA má být před použitím uchovávána při teplotě 2 až 8 °C.

Další potřebné, ale nedodávané materiály

- Jednorázové polystyrenové zkumavky s kulatým dnem (12 x 70-75 mm).
- Stojánek na zkumavky.
- Mikropipeta (100 µl) a mikrodávkovače (200 µl).
- Demineralizovaná (deionizovaná, destilovaná) voda jako promývací roztok.
- Vibrační míchadlo (vortex).
- Systém k promývání kuliček nebo opakovací dávkovač na 2 ml pro přidávání promývacího roztoku a vakuová odsávačka.
- Horizontální třepačka vhodná pro uchycení stojánek na zkumavky. Optimální rychlost je okolo 200 otáček za minutu (*rpm*).
- Gama-čítačová souprava pro ¹²⁵I. Účinnost čítače by měla být větší než 40 %.
- Plastové kleštičky nebo dávkovač pro přidávání kuliček do zkumavek.
- Zařízení pro zacházení s radioaktivním materiálem a jeho likvidaci.
- Počítač s příslušným programem (spojený s gama-čítačem) nebo kalkulačka a papír pro vynášení grafu s osami typu log-log, případně RIA-mat[®] 280 pro plně automatizované provedení testu.

Kvalita standardů a kontrol

Standardy a kontroly soupravy obsahují tkáňový polypeptidický antigen (TPA), který je získáván z purifikovaného a dobře definovaného materiálu. Standardy a kontroly jsou kalibrovány za pomoci interních referenčních vzorků TPA.

Odběr, příprava a skladování vzorku

- Vzorky krve by měly být odebrány před podáním jakékoli léčby, ať už počáteční nebo opakované.
- Stanovení TPA[®] se doporučuje provádět ze séra.
- Mělo by se odebrat množství krve dostatečné k poskytnutí 2 x 100 µl séra (duplikátní vzorky).
- Pokud má být vzorek stanoven během 24 hodin, skladujte jej při 2 až 8 °C. Pokud vzorek nemá být stanoven během 24 hodin, zmrazte jej na teplotu nižší než -18 °C. Jakmile se vzorek zmrazí, může být rozpuštěn pouze jednou.
- Nepoužívejte vzorky silně lipemické, hemolytické nebo kontaminované.
- Vzorky, u nichž byl stanoven obsah vyšší než 4000 U/litr, je třeba k získání přesné hodnoty naředit pomocí diluentu TPA[®]-M IRMA. Před stanovením by se měl naředěný vzorek mírně zamíchat, výsledná hodnota se získá po vynásobení dilučním faktorem.
- Zmrazená séra by se měla po rozmrazení opatrně promíchat.

Příprava reagensů před použitím

Před použitím nechte všechny reagensy vytemperovat na laboratorní teplotu (20 až 28 °C) a opatrně je promíchejte. Zamezte mikrobiální kontaminaci reagensů.

Skladování reagensů po použití

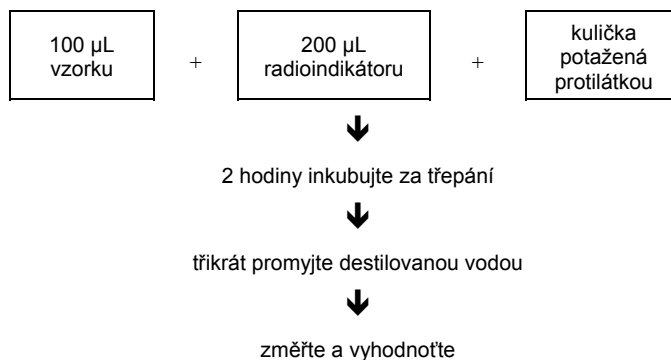
Pokud není celá souprava využita najednou, měly by být reagensy uchovány v původních obalech při teplotě 2 až 8 °C. Takto skladované reagensy jsou stabilní až do data expirace uvedeného na obalu soupravy.

Postup stanovení

Každé stanovení provádějte v duplikátech.

1. Do každé řádně označené zkumavky přidejte 100 µl TPA-M IRMA standardu, vzorku nebo kontroly TPA[®]-M IRMA.
2. Do každé zkumavky přidejte 200 µl radioindikátoru TPA[®]-M IRMA (roztok má červenou barvu). Ke stanovení celkové aktivity (T) přidejte do zkumavky 200 µl radioindikátoru a bez dalšího zpracování změřte radioaktivitu.
3. Do každé zkumavky přidejte za použití plastových kleštíček nebo dávkovače kuliček jednu plastovou kuličku.
4. Zkumavky inkubujte při laboratorní teplotě (20 až 28 °C) 2 hodiny na třepače. (Optimální rychlost je okolo 200 otáček za minutu (*rpm*) a amplituda 20 mm.)
5. Každou kuličku třikrát promyjte vždy 2 ml destilované vody.
6. V gama-čítači změřte radioaktivitu.

Schéma pracovního postupu



Zpracování výsledků

K vyhodnocení hladin TPA v referenčních sérech a ve vzorcích použijte počítač s programem pro zpracování dat typu IRMA. Alternativně mohou být cpm (počet impulsů za minutu) nebo vázaná radioaktivita (% B/T) vyneseny manuálně proti koncentraci analytu. K tomuto účelu se doporučuje papír pro vynášení grafu s osami typu log-log.

Kontrola kvality

Doporučuje se, aby laboratoř měla vlastní kontrolní séra - vedle kontrol TPA[®]-M IRMA 1 a 2 poskytnutých v rámci soupravy.

Příklad výsledků s

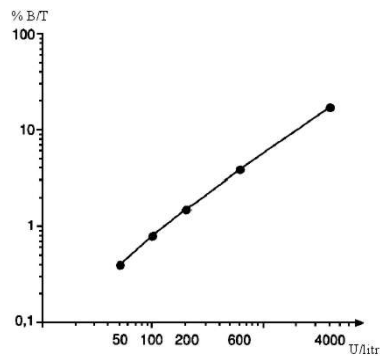
Tato data slouží jako vzor, při výpočtu nelze použít.

Vzorek	cpm	% B/T	TPA U/litr
Celková aktivita	408 992	–	–
B ₀	845	0,2	0
Calibrator 50	2 014	0,5	50
Calibrator 100	3 364	0,8	100
Calibrator 200	6 220	1,5	200
Calibrator 600	14 811	3,6	600
Calibrator 4000	59 945	14,7	4 000
Vzorek 1	1 927	0,5	46
Vzorek 2	8 110	2,0	274
Vzorek 3	27 056	6,6	1 355

K získání optimálních výsledků (B/T cca 12 % pro standard 4000 U/litr) by měla být rychlost třepání 200 otáček za minutu (*rpm*) při amplitudě 20 mm.

Příklad kalibrační křivky

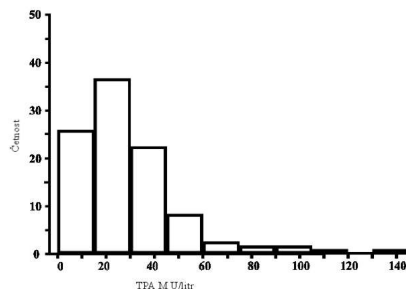
Tato data slouží jako vzor, při výpočtu nelze použít.



Očekávané hodnoty a omezení metodiky

Ve studii provedené se 400 zdravými jedinci byly při logaritmicky normálním rozložení u 95 % nalezeny sérové hladiny TPA nižší než 75 U/litr. Rozložení je ukázáno na obrázku.

Rozložení hodnot TPA[®] u zdravých jedinců



Analytické parametry soupravy

Přesnost

Mean (U/ltr)	Variační koeficient	
	hodnota CV (%) intra-assay	hodnota CV (%) inter-assay
71	4,6	7,0
201	2,6	1,7
349	2,8	4,0
771	2,1	4,1
1 553	2,8	4,1

Citlivost

Nejmenší měřitelná hodnota TPA[®] (hodnota $B_0 + 3 SD$) méně než 15 U/litr.

Rozsah měření

Rozsah měření soupravy TPA[®]-M IRMA je až do 4000 U/litr.

Hodnoty nad 4000 U/litr mohou být stanoveny po naředění vzorku diluentem TPA-M IRMA a opakování testu.

B_0/T

Hodnota B_0/T by měla být nižší než 0,5 %.

Přehled citací odborné literatury: viz originál návod k použití

Χρήση για την οποία προορίζεται

Το Prolifigen® TPA®-M IRMA είναι ένας ανοσοραδιομετρικός προσδιορισμός που προορίζεται για την ποσοτική μέτρηση ευδιάλυτων τεμαχίων των κυτοκερατινών 8, 18 και 19 σε ορό και άλλα σωματικά υγρά.

Αρχή της διαδικασίας

Το Prolifigen® TPA®-M IRMA είναι ένας μονοκλωνικός/πολυκλωνικός ανοσοραδιομετρικός (σάντουιτς) προσδιορισμός δύο τοποθεσιών. Το δείγμα επωάζεται με πλαστική σφαίρα επικαλυμμένη με μονοκλωνικό αντίσωμα, ενώ προστίθεται επισημασμένο με ¹²⁵I πολυκλωνικό αντίσωμα έναντι του TPA®.

Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις για τους χρήστες

1. Γενικά

- Το προϊόν αυτό προορίζεται μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*.
- Αυτό το πακέτο δεν θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στη συσκευασία.
- Μην αναμιγνύετε αντιδραστήρια από διαφορετικές παρτίδες.
- Η ακρίβεια των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού αυτού σχετίζεται άμεσα με το βαθμό προσοχής που ασκείται κατά την τοποθέτηση των αντιδραστηρίων με πιπέτα, το στροβιλισμό (vortex), την αναρρόφηση και την τήρηση της μεθοδολογίας και των θερμοκρασιακών απαιτήσεων.
- Το αζίδιο του νατρίου που χρησιμοποιείται ως συντηρητικό στο προϊόν αυτό μπορεί να προκαλέσει ερεθισμό: Αποφύγετε την επαφή με το δέρμα και τις βλεννογόνους μεμβράνες.
- Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων.
- Τηρήστε τις κανονικές προφυλάξεις που απαιτούνται για το χειρισμό όλων των εργαστηριακών αντιδραστηρίων.
- Η απόρριψη όλων των απόβλητων υλικών θα πρέπει να γίνεται σε συμφωνία με τις τοπικές κατευθυντήριες γραμμές.
- Τα συστατικά του πακέτου, καθώς και ο ορός ασθενή, πρέπει να θεωρούνται δυνητικές μολυσματικές ουσίες και ο χειρισμός τους θα πρέπει να γίνεται με επαρκείς προφυλάξεις.
- Διατίθενται φύλλα δεδομένων ασφάλειας υλικών, κατόπιν αίτησης.

2. Ραδιενεργό υλικό

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ ΙΩΔΙΟ 125

Το kit αυτό περιέχει ραδιενεργό υλικό το οποίο δεν υπερβαίνει τα 27 μCi (1003 kBq) σε ιώδιο 125. Κατά τη φύλαξη, το χειρισμό και τη διάθεση του υλικού αυτού, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται κατάλληλες προφυλάξεις και καλές εργαστηριακές πρακτικές.

Προς ιατρούς ή ιδρύματα που παραλαμβάνουν ραδιοϊσότοπα κάτω από γενική άδεια:

Το παρόν ραδιενεργό υλικό μπορεί να ληφθεί, να αποκτηθεί, να κατέχεται και να χρησιμοποιείται μόνο από ιατρούς, κτηνίατρος που εξασκούν κτηνιατρική ιατρική, κλινικά εργαστήρια ή νοσοκομεία και μόνο για κλινικές ή εργαστηριακές δοκιμές *in vitro* που δεν περιλαμβάνουν την εσωτερική ή εξωτερική χορήγηση του υλικού, ή της ακτινοβολίας αυτού, σε ανθρώπους και ζώα. Η παραλαβή, η απόκτηση, η κατοχή, η χρήση και η μεταφορά υπόκεινται στους κανονισμούς και τη γενική άδεια της Ρυθμιστικής Επιτροπής Πυρηνικών των Η.Π.Α. (NRC) της πολιτείας στην οποία η επιτροπή έχει συνάψει συμφωνία για την άσκηση καθηκόντων αρμόδιας αρχής.

1. Η φύλαξη του ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να περιοριστεί σε ειδικά επισημασμένο χώρο.
2. Η πρόσβαση σε ραδιενεργά υλικά πρέπει να περιοριστεί μόνο σε εξουσιοδοτημένο προσωπικό.
3. Μην χρησιμοποιείτε πιπέτα με το στόμα σε ραδιενεργά διαλύματα.
4. Μην τρώτε ή πίνετε εντός των χώρων εργασίας που έχουν επισημανθεί ως ραδιενεργοί.

5. Οι περιοχές, όπου ενδεχομένως έχουν προκληθεί εκχύσεις, θα πρέπει να σκουπιστούν και κατόπιν να πλυθούν με αλκαλικό απορρυπαντικό ή ραδιολογικό απολυμαντικό διάλυμα. Τυχόν υάλινα σκεύη που χρησιμοποιήθηκαν πρέπει να εκπλυθούν καλά με νερό πριν από την πλύση άλλων εργαστηριακών υάλινων σκευών.

Προς ιατρούς ή ιδρύματα που παραλαμβάνουν ραδιοϊσότοπα κάτω από ειδική άδεια:

Η παραλαβή, η χρήση, η μεταφορά και η διάθεση των ραδιενεργών υλικών υπόκεινται στους κανονισμούς και τις συνθήκες της ειδικής άδειάς σας.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ: Το προϊόν αυτό περιέχει μια χημική ουσία η οποία είναι γνωστό από την πολιτεία της Καλιφόρνιας ότι προκαλεί καρκίνο.

ΠΡΟΣΟΧΗ: Η ραδιενέργεια που αναγράφεται στο ένθετο συσκευασίας μπορεί να διαφέρει ελαφρώς από τη ραδιενέργεια που αναγράφεται στην ετικέτα συσκευασίας ή στην ετικέτα φιαλιδίου ιχνηθέτη. Η ετικέτα συσκευασίας και η ετικέτα φιαλιδίου ιχνηθέτη υποδεικνύουν την πραγματική ποσότητα ραδιενέργειας κατά την ημερομηνία βαθμονόμησης, ενώ το ένθετο συσκευασίας υποδεικνύει τη θεωρητική ραδιενέργεια του κιτ.

Συστατικά του πακέτου

Τα ακόλουθα αντιδραστήρια παρέχονται με κάθε πακέτο δοκιμής για 100 δοκιμαστικούς σωλήνες προσδιορισμού:

1. **Σφαίρες επικαλυμμένες με αντίσωμα TPA[®]-M IRMA**
1 φιαλίδιο που περιέχει >100 ξηρές σφαίρες επικαλυμμένες με μονοκλωνικά αντισώματα (ποντικού) έναντι του TPA. Περιέχει βόεια λευκωματίνη ορού (BSA).
2. **Ιχνηθέτης TPA[®]-M IRMA**
1 φιαλίδιο που περιέχει 21 mL πολυκλωνικού αντισώματος αντι-TPA επισημασμένου με ¹²⁵Iώδιο. Συνολική ραδιενέργεια -1003 KBq (-27 μCi). Χρωματισμένο κόκκινο για να διευκολύνεται η αναγνώριση. Περιέχει βόεια λευκωματίνη ορού (BSA).
3. **Βαθμονομητές TPA[®]-M IRMA**
6 x 1 mL φιαλίδια υλικού βαθμονόμησης TPA. Οι συγκεντρώσεις είναι 0, 50, 100, 200, 600 και 4000 U/L αντίστοιχα σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών με BSA.
4. **Αραιωτικό TPA[®]-M IRMA**
1 x 2,5 mL φιαλίδιο που περιέχει ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών με BSA.
5. **Υλικά ελέγχου 1 και 2 TPA[®]-M IRMA**
2 x 1 mL φιαλίδια που περιέχουν TPA σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών με BSA.
6. **Έκθεση ποιοτικού ελέγχου**

Σημείωση: Τα παραπάνω αντιδραστήρια 2, 3, 4 και 5 περιέχουν <0,1% αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό.

Το πακέτο Prolifigen[®] TPA[®]-M IRMA θα πρέπει να φυλάσσεται στους 2 έως 8°C πριν από τη χρήση.

Λοιπά υλικά που απαιτούνται, αλλά δεν παρέχονται

- Δοκιμαστικοί σωλήνες πολυστερενίου με στρογγυλό πάτο (12 x 70-75 χλστ), μίας χρήσης.
- Βάση δοκιμαστικών σωλήνων
- Μικροπιπέτα (100 μL) και μικροδιανομείς (200 μL).
- Κεκαθαρισμένο νερό ως υγρό πλύσης.
- Όργανο περιδίνησης (vortex)
- Σύστημα πλύσης σφαιρών, ή επαναλαμβανόμενος διανομέας 2 mL, για την προσθήκη υγρού πλύσης και μια συσκευή αναρρόφησης με κενό.

- Οριζόντια συσκευή ανάδευσης κατάλληλη για τη στήριξη των βάσεων δοκιμαστικών σωλήνων.
Βέλτιστη ταχύτητα περίπου 200 σ.α.λ.
- Μετρητής γάμα ρυθμισμένος για ¹²⁵Ιώδιο. Η αποδοτικότητα του μετρητή θα πρέπει να είναι >40%.
- Πλαστική λαβίδα ή διανομέας σφαιρών για την προσθήκη των σφαιρών στους δοκιμαστικούς σωλήνες.
- Εγκαταστάσεις για το χειρισμό και την απόρριψη ραδιενεργού υλικού.
- Υπολογιστής με κατάλληλο πρόγραμμα (συντάσσεται συνδεδεμένος με μετρητή γάμα), ή αριθμομηχανή και γραφικό χαρτί, τύπου log-log, ή το RIA-mat[®] 280 για την πλήρη αυτοματοποίηση της απόδοσης του τεστ.

Ιχνηλασιμότητα των βαθμονομητών και των υλικών ελέγχου

Οι βαθμονομητές και τα υλικά ελέγχου του πακέτου αποτελούνται από πολυεπιπεπτιδικό αντιγόνο ιστού (TPA). Αυτό το TPA προέρχεται από κεκαθαρισμένο και καλώς χαρακτηρισμένο υλικό. Οι βαθμονομητές και τα υλικά ελέγχου έχουν βαθμονομηθεί με εσωτερικό υλικό αναφοράς TPA.

Συλλογή, προετοιμασία και φύλαξη δειγμάτων

- Τα δείγματα αίματος θα πρέπει να λαμβάνονται πριν τη χορήγηση οποιασδήποτε θεραπείας, είτε αυτή είναι η αρχική θεραπεία είτε είναι επαναλαμβανόμενη θεραπεία.
- Για τον ποσοτικό προσδιορισμό του TPA[®], συνιστάται ορός.
- Θα πρέπει να γίνει συλλογή επαρκούς ποσότητας αίματος για 2 x 100 μL ορό (δείγματα εις διπλούν).
- Σε περίπτωση που ο προσδιορισμός του δείγματος γίνει εντός 24 ωρών, φυλάξτε το στους 2 έως 8°C. Σε περίπτωση που ο προσδιορισμός του δείγματος δεν γίνει εντός 24 ωρών, καταψύξτε το κάτω από τους -18°C. Μόλις καταψυχθεί, θα πρέπει να αποψύξετε το δείγμα μόνο μία φορά.
- Μη χρησιμοποιείτε δείγματα που είναι υπερβολικά λιπαιμικά, αιμολυμένα ή μολυσμένα.
- Τα δείγματα για τα οποία έχει βρεθεί ότι περιέχουν περισσότερα από 4000 U/L, μπορούν να αραιωθούν με αραιωτικό TPA[®]-M IRMA για τη λήψη ακριβούς τιμής. Θα πρέπει να αναμίξετε απαλά το αραιωμένο δείγμα πριν από τον προσδιορισμό, ενώ θα πρέπει να λάβετε υπόψη το συντελεστή αραιώσεως στον τελικό υπολογισμό.
- Ο κατεψυγμένος ορός θα πρέπει να αναμιγνύεται απαλά μετά την απόψυξη.

Προετοιμασία των αντιδραστηρίων πριν τη χρήση

Πριν από κάθε χρήση, θα πρέπει να αφήνετε όλα τα αντιδραστήρια να φτάσουν τη θερμοκρασία δωματίου (20 έως 28 °C), ενώ θα πρέπει επίσης να τα αναμίξετε απαλά. Θα πρέπει να αποφεύγεται η βακτηριακή μόλυνση των αποθηκευμένων αντιδραστηρίων.

Φύλαξη αντιδραστηρίων μετά τη χρήση

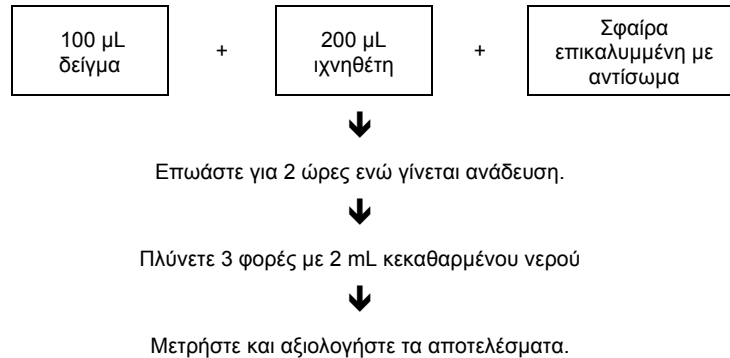
Σε περίπτωση που δεν χρησιμοποιήσετε μαζί όλο το πακέτο, θα πρέπει να φυλάξετε τα αντιδραστήρια στους αρχικούς περιέκτες τους στους 2 έως 8°C. Τα αντιδραστήρια, τα οποία φυλάσσονται με τον τρόπο αυτό, είναι σταθερά έως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα της συσκευασίας.

Διαδικασία δοκιμής

Εκτελέστε κάθε προσδιορισμό εις διπλούν.

1. Προσθέστε 100 μL βαθμονομητή TPA®-M IRMA ορό ασθενή/υλικό ελέγχου TPA®-M IRMA σε κάθε σημειωμένο δοκιμαστικό σωλήνα.
2. Προσθέστε 200 μL ιχνηθέτη TPA®-M IRMA σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα (το διάλυμα έχει ερυθρό χρώμα).
Για να υπολογίσετε τις συνολικές κρούσεις (T), προσθέστε 200 μL ιχνηθέτη σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα και μετρήστε τη ραδιενέργεια χωρίς περαιτέρω επεξεργασία.
3. Προσθέστε μία πλαστική σφαίρα σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα με χρήση της πλαστικής λαβίδας ή του διανομέα σφαιρών.
4. Επώαστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου (20 έως 28 °C) σε συσκευή ανάδευσης. (Η βέλτιστη ταχύτητα είναι περίπου 200 σ.α.λ. και το πλάτος 20 χλστ.).
5. Πλύνετε κάθε σφαίρα 3 φορές με 2 mL κεκαθαρμένου νερού.
6. Μετρήστε τη ραδιενέργεια σε μετρητή γάμα.

Διάγραμμα ροής



Επεξεργασία αποτελεσμάτων

Χρησιμοποιήστε υπολογιστή που διαθέτει πρόγραμμα για το χειρισμό δεδομένων τύπου IRMA ώστε να αξιολογηθούν τα επίπεδα TPA® στον ορό αναφοράς και τον ορό ασθενών. Εναλλακτικά, μπορείτε να σχεδιάσετε με το χέρι τις κρούσεις ή τη δεσμευμένη ραδιενέργεια (% B/T) σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση της αναλυόμενης ουσίας. Για το λόγο αυτό, συνιστάται γραφικό χαρτί log-log.

Ποιοτικός έλεγχος

Συνιστάται το εργαστήριο να διαθέτει δικά του υλικά ελέγχου ποιότητας, εκτός των υλικών ελέγχου 1 και 2 TPA®-M IRMA που παρέχονται με το πακέτο.

Παράδειγμα αποτελεσμάτων

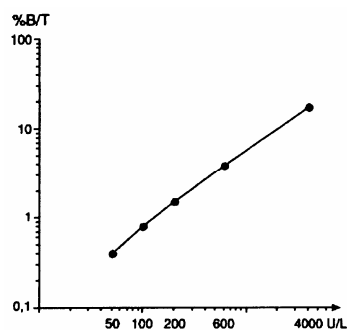
Το παρακάτω αποτελεί μόνο ένα παράδειγμα και δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται για τους υπολογισμούς.

Δείγμα	CPM	% Β/Τ	TPA U/L
Σύνολο	408 992	–	–
B ₀	845	0,2	0
Βαθμονομητής 50	2 014	0,5	50
Βαθμονομητής 100	3 364	0,8	100
Βαθμονομητής 200	6 220	1,5	200
Βαθμονομητής 600	14 811	3,6	600
Βαθμονομητής 4000	59 945	14,7	4 000
Δείγμα ασθενή 1	1 927	0,5	46
Δείγμα ασθενή 2	8 110	2,0	274
Δείγμα ασθενή 3	27 056	6,6	1 355

Για βέλτιστα αποτελέσματα (Β/Τ ~12% για το βαθμονομητή 4000 U/L), η ταχύτητα ανάδευσης δεν θα πρέπει να υπερβεί τα 200 σ.α.λ. και πλάτος 20 χλστ.

Υπόδειγμα καμπύλης βαθμονομητή

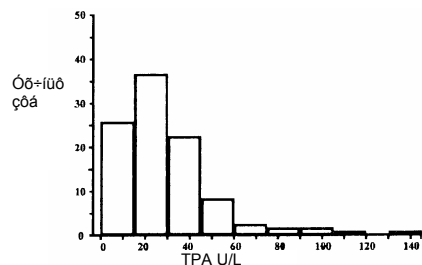
Το παρακάτω αποτελεί μόνο ένα παράδειγμα και δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται για τους υπολογισμούς.



Αναμενόμενες τιμές και περιορισμοί της διαδικασίας

Σε μια μελέτη 400 φαινομενικά υγιών ατόμων, βρέθηκε ότι το 95% στη λογαριθμοκανονική κατανομή είχαν τιμές TPA[®] ορού μικρότερες από 75 U/L. Η κατανομή παρουσιάζεται στο παρακάτω σχήμα.

Κατανομή τιμών TPA® σε υγιή άτομα



Χαρακτηριστικά δοκιμής

Ακρίβεια

Μέση τιμή (U/L)	Συντελεστής διακύμανσης	
	ΣΔ (%) εντός της ίδιας εκτέλεσης	ΣΔ (%) μεταξύ σειρών εκτελέσεων
71	4,6	7,0
201	2,6	1,7
349	2,8	4,0
771	2,1	4,1
1 553	2,8	4,1

Ευαισθησία

Η ελάχιστη μετρούμενη τιμή TPA® (τιμή $B_0 + 3 TA$) είναι <15 U/L.

Περιοχή τιμών μέτρησης

Η περιοχή τιμών μέτρησης του πακέτου TPA®-M IRMA φτάνει τα 4000 U/L.

Μπορείτε να μετρήσετε τις τιμές που υπερβαίνουν τα 4000 U/L μετά από αραιώση του δείγματος με αραιωτικό TPA®-M IRMA και επανάληψη του προσδιορισμού.

B_0/T

Η τιμή B_0/T θα πρέπει να είναι <0,5%.

**REFERENCES/LITERATUR/RÉFÉRENCES/BIBLIOGRAFIA/REFERENCIAS/
REFERENCE/REFERENSER/IRODALOM/ODKAZY/Βιβλιογραφικές αναφορές**

1. Nathrath WBJ, Heidenkummer P, Björklund V, Björklund B: Distribution of tissue polypeptide antigen (TPA) in normal human tissues: Immunohistochemical study on unfixed, methanol-, ethanol-, and formalin-fixed tissues. *J Histochem Cytochem* 1985; 33:99–109.
2. Kirsch J, Oehr P, Winkler C: Localization of tissue polypeptide antigen in interphase HeLa cells by immunofluorescence microscopy. *Tumordiagn Ther* 1983; 4:189–228.
3. Kirsch J, Oehr P, Winkler C: Localization of tissue polypeptide antigen in HeLa cells during mitosis as revealed by immunofluorescence microscopy. *Tumordiagn Ther* 1984; 5:122–6.
4. Weber K, Osborn M, Moll R, Wiklund B, Lüning B: Tissue polypeptide antigen (TPA) is related to the non-epidermal keratins 8, 18 and 19 typical of simple and non-squamous epithelia: re-evaluation of a human tumour marker. *EMBO J* 1984; 3:2707–14.
5. Lüning B, Nilsson U: Sequence homology between tissue polypeptide antigen (TPA) and intermediate filament (IF) proteins. *Acta Chem Scand B* 1983; 731–3.
6. Mellerick DM, Osborn M, Weber K: On the nature of serological tissue polypeptide antigen (TPA); monoclonal keratin 8, 18 and 19 antibodies react differently with TPA prepared from human cultured carcinoma cells and TPA in human serum. *Oncogene* 1990; 5:1007–1017.
7. Lüning B: New aspects on the specificity of tumour marker TPA. *Lab Med* 1984; 8:445.
8. Oehr P, Vogel J: TPA release from cells: Mechanism for induction of elevated plasma levels in patients with TPA positive tumours. 12 Ann Meet ISOBM, Houston Texas October 1984 Abstr no 106.
9. Barak M, Steiner M, Finkel B, Abrahamson J, Antal S, Gruener N: CA-15.3, TPA and MCA as markers for breast cancer. *Eur J Cancer* 1990; 26:577–580.
10. Maffei S, Rudoni M, Antonini G, Sacchetti G, Krengli M: CA 15-3 associated with CEA and TPA in the follow-up of breast carcinoma (Ita). *Minerva Med* 1990; 81:759–763.
11. Müller MM, Griesmacher A, Hölzel W: Diagnostic relevance of tumour-marker profiles. *Int Congr Ser* 1989; 807:33–50.
12. Söletormos G, Nielsen D, Schiöler V, Skovsgaard T, Dombrowsky P: Does addition of CA549 to CA15.3, CEA and TPA give further information in monitoring metastatic breast cancer? (Meeting abstract). *Proc Annu Meet Am Assoc Cancer Res* 1990; 31:A1008.
13. Nicolini A, Colombini C, Luciani L, Carpi A, Giuliani L: Evaluation of serum CA15-3 determination with CEA and TPA in the post-operative follow-up of breast cancer patients (eng). *Br J Cancer* 1991; 64:154–8.
14. Abbasciano V, Levato F, Zavagli G: Specificity of carcino embryonic antigen, gastrointestinal cancer-associated antigen, tissue polypeptide antigen, fibrinopeptide A and gamma-glutamyltransferase in the diagnosis and follow-up of gastric cancer. *Oncology* 1988; 45:159–61.
15. Barillari P, D Angelo F, Ramacciato G, Ricci M, Santeusano G, De Angelis R, Aurello P, Fegiz G: The role of CEA, TPA and CA 19-9 in the early detection of recurrent gastric cancer. *Cancer J* 1990; 3:139–142.
16. Ståhle E, Glimelius B, Bergström R, Pählman L: Preoperative prediction of late cancer-specific deaths in patients with rectal and rectosigmoid carcinoma. *Int J Color Dis* 1989; 4:182–187.
17. Gronowitz JS, Bergström R, Nöu E, Pählman S, Brodin O, Nilsson S, Källander CF: Clinical and serologic markers of stage and prognosis in small cell lung cancer. A multivariate analysis. *Cancer* 1990; 66:722–732.
18. Haga E: Tissue polypeptide antigen in serum and tissue in patients with lung cancer (Jpn). *Nippon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi* 1990; 28:595–604.
19. Ratto GB, Capponi G, de Grandi R, Augeri C, Secco GB, Fardelli R: Tumour markers. I. Their significance in the preoperative assessment of lung neoplasms. *Minerva Chir* 1990; 45:1265–72.

20. Tizzani A, Casetta G, Piana P, Cavallini A: Tumour-associated antigens in diagnosis and follow-up of superficial bladder carcinomas (Meeting abstract). *European Urol* 1990; 18 (Suppl 1):69.
21. Tizzani A, Casetta G, Cavallini A, Piana P, Piantino P: Blood and urine determinations of tissue polypeptide antigen in patients with bladder carcinoma (Ita). *Minerva Urol Nefrol* 1990; 42:69–71.
22. Oehr P, Fischer L, Kersjes W, Adolphs HD, Biersack HJ, Winkler C: Distribution, sensitivity and specificity of CEA, TPA and (CEAxTPA) marker product values in patients with carcinoma of the bladder. *Nuc Compact* 1984; 15:152–4.
23. Adolphs HD, Oehr P: Significance of plasma tissue polypeptide antigen determination for diagnosis and follow-up of urothelial bladder cancer. *Urol Res* 1984; 12:125–8.
24. Rütger U, Lütgens M, Bäuerle K, Rassweiler J, Bub P, Eisenberger F, Jipp P, Kruse-Jarres JD: Surveillance and M-VEC therapy monitoring of patients with advanced carcinoma of the urinary tract by TPA. *J Tumour Marker Oncol* 1989; 4:303–321.
25. Carbin BE, Ekman P, Eneroth P, Nilsson B: Urine-TPA (tissue polypeptide antigen), flow cytometry and cytology as markers for tumour invasiveness in urinary bladder carcinoma. *Urol Res* 1989; 17:269–272.
26. Yoshida M, Morimoto S, Uekado Y, Yasukawa S, Aoshi H, Yoshida T, Ebisuno S, Ohkawa T: Clinical studies on urinary tissue polypeptide antigen (TPA): problems and improvement in determination (Jpn). *Hinyokika Kyo* 1989; 35:217–223.
27. Lewenhaupt A, Ekman P, Eneroth P, Nilsson B, Nordström L: Tissue polypeptide antigen (TPA) as a prognostic aid in human prostatic carcinoma. *Prostate* 1985; 6:285–91.
28. Kreienberg R, Melchert F: New developments in the area of markers in diagnosis and monitoring of ovarian cancer (Ger). *Onkologie* 1985; 8:253–9.
29. Lahousen M, Stettner H, Pickel H, Urdl W, Pürstner P: The predictive value of a combination of tumour markers in monitoring patients with ovarian cancer. *Cancer* 1987; 60:2228–32.
30. Panza N, Pacilio G, Campanella L, Peluso G, Battista C, Amoriello A, Utech W, Vacca C, Lombardi G: Cancer antigen 125, tissue polypeptide antigen, carcinoembryonic antigen, and b-chain human chorionic gonadotropin as serum markers of epithelial ovarian carcinoma. *Cancer* 1988; 61:76–83.
31. Paulick R, Caffier H, Horner G, Lang K, Filbry E: Clinical significance of different serum tumour markers in gynaecological malignancies. *Cancer Detect Prev* 1985; 8:115–20.
32. Lahousen M, Stettner H, Pürstner P, Pickel H: Tumour marker combination versus second-look operation in ovarian cancer (Ger). *Zentralbl Gynäkol* 1990; 112:561–566.

The data presented in this instruction booklet have been carefully compiled from our records and from the scientific literature and we believe them to be accurate and reliable. We do not, however, give any warranties or make any representations with respect hereto, nor is freedom from any patent to be inferred.

Die in dieser Gebrauchsinformation verwendeten Daten wurden sorgfältig aus unseren Unterlagen und wissenschaftlichen Publikationen zusammengestellt. Für ihre Genauigkeit und Zuverlässigkeit kann keine Haftung übernommen werden. Verwendete Patente wurden nicht extra gekennzeichnet, auf eine Freistellung hiervon darf jedoch nicht geschlossen werden.

Les données présentées dans ce mode d'emploi sont une compilation soignée de nos observations et de la littérature scientifique et nous les considérons exactes et fiables. Cependant, nous ne donnons aucune garantie ni interprétation à ce sujet, ni n'excluons la possibilité que ces informations puissent faire l'objet de brevets.

I dati riportati in questo libretto di istruzioni sono stati ricavati dai nostri esperimenti e dalla letteratura scientifica e vengono da noi considerati accurati ed affidabili. In ogni modo non viene fornita alcuna garanzia per quanto riguarda la ri-produzione dei dati. Ne escludiamo la possibilità che queste informazioni siano oggetto di brevetti.

Los datos presentados en este folleto de instrucciones han sido cuidadosamente recopilados a partir de nuestros registros y de textos científicos, y consideramos que son precisos y fiables. No obstante, no ofrecemos ninguna garantía ni realizamos ninguna aseveración respecto a los anteriores, ni se debe inferir que estén libres de ninguna patente.








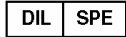
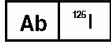


Datamaterialet vist i denne instruktionsfolder er grundigt udarbejdet ud fra vores optegnelser og videnskabelige litteratur, og vi mener, at det er nøjagtigt og pålideligt. Vi afgiver dog ingen garantier eller anbringender desangående, og der kan ej heller udledes nogen form for patentfrihed.

Data som beskrivs i denna bruksanvisning har omsorgsfullt sammanställts från egen information och från vetenskaplig litteratur och dess riktighet och tillförlitlighet har kontrollerats. Vi kan dock inte garantera informationens tillförlitlighet och inte heller frihet från patenträttigheter.

A felhasználói utasításban szereplő adatok saját eredményeink, valamint tudományos irodalmakból származnak, melynek hitelességét és megbízhatóságát elfogadjuk. Ennek ellenére semmilyen garanciát nem vállalunk a továbbiakban.



Τα στοιχεία που παρουσιάζονται σε αυτό το φυλλάδιο οδηγιών συγκεντρώθηκαν με προσοχή από τα αρχεία μας και την επιστημονική βιβλιογραφία και πιστεύουμε ότι είναι ακριβή και αξιόπιστα. Ωστόσο, δεν παρέχουμε εγγυήσεις ούτε αντιπροσωπεύσεις σχετικά με όσα αναφέρονται στο παρόν και ούτε πρέπει να εκληφθεί ως δεδομένη η εξαίρεση από οποιαδήποτε ευρεσιτεχνία.

SYMBOLS USED WITH DEVICES

	English	Français	Deutsch	Español	Italiano
	European Conformity	Conformité aux normes européennes	CE – Konformitätskennzeichnung	Conformidad europea	Conformità europea
	Expiration Date	Date limite d'utilisation	Mindesthaltbarkeitsdatum	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Manufacturer	Fabricant	Hersteller	Fabricante	Fabbricante
	Consult Instructions for Use	Consulter les instructions d'utilisation	Gebrauchsanweisung beachten	Consulte las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso
	In vitro diagnostic.	Diagnostic in vitro.	In-vitro-Diagnostikum.	Diagnóstico in vitro.	Diagnostica in vitro.
	Temperature limitation.	Limitation de température.	Temperaturbereich	Limitación de temperatura	Limite della temperatura
	Solid phase (Coated beads)	Phase solide (Billes enduites)	Festphase (Beschichtete Kügelchen)	Fase sólida (Perlas recubiertas)	Fase solida (Perle con rivestimento)
	Sample Diluent	Diluant d'échantillon	Proben-Diluent	Diluyente de muestras	Diluente campione
	Tracer: antibody labelled with ¹²⁵ I	Traceur : anticorps marqué à l'iode ¹²⁵ I	Tracer: ¹²⁵ I-markierter Antikörper	Trazador: anticuerpo etiquetado con ¹²⁵ I	Tracciatore: anticorpo etichettato con ¹²⁵ I
	Calibrator	Étalon	Kalibrator	Calibrador	Calibratore
	Control serum	Sérum de contrôle	Kontrollserum	Suero de control	Siero di controllo

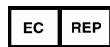
SYMBOLS USED WITH DEVICES CONTINUED ON NEXT PAGE.

CONTINUED FROM PREVIOUS PAGE - SYMBOLS USED WITH DEVICES

	Dansk	Svenska	Magyar	Česky	Ελληνικά
	Europæisk øverensstømmeise	Europeisk øverensstømmeise	European Conformity	Evropská shoda	Ευρωπαϊκή Συμμόρφωση
	Udløbsdato	Utgångsdatum	Lejárati ido	Datum expirace	Ημερομηνία λήξης
	Producent	Tilverkare	Gyártó	Výrobce	Κατασκευαστής
	Se brugsanvisning	Se bruksanvisningen	Felhasználói utmutató	Srovnejte s návodem pro použití	Συμβουλευτείτε τις Οδηγίες Χρήσης
	In vitro diagnostik.	Diagnostik in vitro.	In vitro diagnosztika	In vitro diagnostika	In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν.
	Temperaturgrænse	Temperatur- begrænsning.	Homérséklet tartomány	Číslo šarže	Περιορισμοί θερμοκρασίας
	Fast fase (Coatede slanger)	Solid fas (Belagda strångar)	Szilárd fázis, bevonatos cso	Teplotní omezení	Στερεή φάση (/Επικαλυμμένες χάντρες)
	Fortyndingsvæske, prøve	Provutspådningsmedel	Minta hígító	Kalibrátor	Αραιωτικό δείγματος
	Tracer: antistof mærket med ¹²⁵ I	Spårelement: antikropp betecknad med ¹²⁵ I	Tracer: ²⁵ I-tel jelölt antitest	Kontrolní sérum	Ιχνηθέτης: Αντίσωμα σημασμένο με ¹²⁵ I
	Kalibrator	Kalibrator	Kalibrátor	Protílátka značená ¹²⁵ I	Βαθμονομητής
	Kontrolserum	Kontrollserum	Kontroll	Diluent vzorku	Ορός μάρτυρα

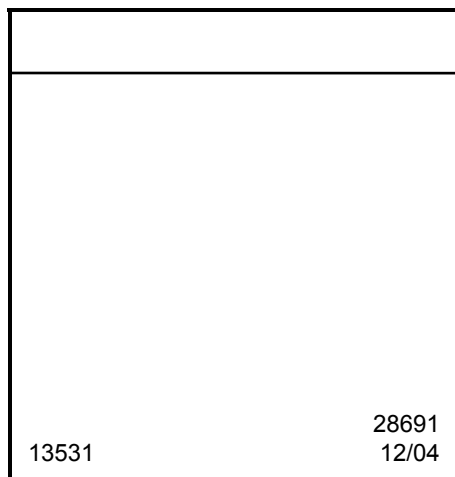


DiaSorin Inc.
1951 Northwestern Avenue
P.O. Box 285
Stillwater, MN 55082-0285



DiaSorin S.p.A.,
13040 Saluggia (VC) Italy

Phone: 651-439-9710
FAX: 651-351-5669



13531

28691
12/04

PRINTED IN U.S.A.

