

 IMMULITE[®]
2000

Calcitonin

IMMULITE[®] 2000 Calcitonin

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE 2000 Analyzer — for the quantitative measurement of calcitonin (thyrocalcitonin) in human serum or heparinized plasma, as an aid in the diagnosis and treatment of diseases involving the thyroid and parathyroid glands, including carcinoma and hyperparathyroidism.

Catalog Number: **L2KCL2** (200 tests)

Test Code: **CAL** Color: **Dark Pink**

CDC Analyte Identifier Code: 1041

CDC Test System Identifier Code: 10418

CLIA Complexity Category: Moderate

Summary and Explanation

Human calcitonin is a single-chain peptide hormone produced primarily in the thyroid gland, where it is secreted by the parafollicular "C" cells rather than by the thyroxine-secreting cells.¹ The calcitonin chain is 32 amino acids in length, and has a molecular mass of 3,418 daltons.¹ In pathological conditions, the hormone exhibits a certain degree of heterogeneity. Its half-life in plasma is approximately 10 minutes. Metabolized predominantly by the kidney, calcitonin is also degraded to some extent by a plasma factor, making it important to freeze samples soon after collection.^{1,3}

The physiological significance of calcitonin is uncertain, but it does have a modest calcium- and phosphorus-lowering effect. Its secretion is normally modulated by rising and falling calcium levels, with an increase in circulating calcium prompting an increase in the calcitonin level.^{1,18}

A fasting basal range of 3–19 pg/mL for healthy adults, based on radioimmunoassay of extracted plasma, has been reported.² Elevated levels (greater than 100 pg/mL) are encountered in a variety of pathological conditions, notably medullary thyroid carcinoma, a tumor of the calcitonin-secreting cells of the thyroid. The peptide is also frequently

elevated in leukemic and myeloproliferative disorders.⁹

In addition, it may be produced ectopically by tumors, e.g. those of the lung or breast.^{10,11,12,15,19} Its measurement, however, does not appear to be of value in the diagnosis of such disorders.

Elevations may also be seen in connection with hyperparathyroidism, hypergastrinemia, renal failure and chronic inflammatory disease.^{13,18}

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 Calcitonin is a solid-phase, enzyme-labeled, two-site chemiluminescent immunometric assay.

Incubation Cycles: 2 × 30 minutes.

Specimen Collection

A fasting morning specimen is usually obtained to establish baseline values. If the samples are being collected as part of a provocative test, the time of collection should be noted relative to calcium or pentagastrin infusion.

EDTA has an effect on the assay and is not recommended as a sample type.

The use of an ultracentrifuge is recommended to clear lipemic samples.

Hemolyzed samples may indicate mistreatment of a specimen before receipt by the laboratory; hence the results should be interpreted with caution.

Centrifuging serum samples before a complete clot forms may result in the presence of fibrin. To prevent erroneous results due to the presence of fibrin, ensure that complete clot formation has taken place prior to centrifugation of samples. Some samples, particularly those from patients receiving anticoagulant therapy, may require increased clotting time.

Blood collection tubes from different manufacturers may yield differing values, depending on materials and additives, including gel or physical barriers, clot activators and/or anticoagulants. IMMULITE 2000 Calcitonin has not been tested with all possible variations of tube

types. Consult the section on Alternate Sample Types for details on tubes that have been tested.

Volume Required: 75 µL serum or heparinized plasma.

Storage: Stable 15 days at –20°C or longer at –70°C.²³ Freeze immediately.

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.

Reagents: Store at 2–8°C. Dispose of in accordance with applicable laws.

Follow universal precautions, and handle all components as if capable of transmitting infectious agents. Source materials derived from human blood were tested and found nonreactive for syphilis; for antibodies to HIV 1 and 2; for hepatitis B surface antigen; and for antibodies to hepatitis C.

Chemiluminescent Substrate: Avoid contamination and exposure to direct sunlight. (See insert.)

Water: Use distilled or deionized water.

Materials Supplied

Components are a matched set. Labels on the inside box are needed for the assay.

Calcitonin Bead Pack (L2CL12)

With barcode. 200 beads, coated with monoclonal murine anti-calcitonin. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KCL2: 1 pack.

Calcitonin Reagent Wedge (L2CLA2)

With barcode. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to polyclonal goat anti-calcitonin, in a protein buffer. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KCL2: 1 wedge.

Before use, tear off the top of the label at the perforations, without damaging the barcode. Remove the foil seal from the top of wedge; snap the sliding cover down into the ramps on the reagent lid.

Calcitonin Adjustors (LCLL, LCLH)

Two vials (Low and High) of lyophilized calcitonin, in a protein/buffer matrix. Reconstitute each vial with **3.0 mL** distilled or deionized water. Aliquot and freeze. Stable at –20°C for 3 months after

reconstitution.

L2KCL2: 1 set.

Before making an adjustment, place the appropriate Aliquot Labels (supplied with the kit) on test tubes so that the barcodes can be read by the on-board reader.

Kit Components Supplied Separately

Multi-Diluent 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

For the on-board dilution of patient samples. One vial, concentrated (ready-to-use), nonhuman protein/buffer matrix, with preservative. Storage: 30 days (after opening) at 2–8°C or 6 months (aliquotted) at –20°C.

L2M2Z: 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.

L2M2Z: 3 labels **L2M2Z4:** 5 labels

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate

L2PWSM: Probe Wash

L2KPM: Probe Cleaning Kit

LRXT: Reaction Tubes (disposable)

L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)

L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

LCLCM: Bi-level, protein/buffer-based control module.

Also Required

Distilled or deionized water; test tubes; controls.

Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE 2000 Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval: 4 weeks.

Quality Control Samples: Use controls or sample pools with at least two levels (low and high) of calcitonin.

Expected Values

Serum samples from 120 male and 90 female subjects in apparent good health were analyzed by the IMMULITE 2000 Calcitonin procedure

Males: Upper 95% range: 8.4 pg/mL
(2.46 pmol/L)
Absolute range: ND – 18.2 pg/mL
(ND – 5.33 pmol/L)

Females: Upper 95% range: 5.0 pg/mL
(1.46 pmol/L)
Absolute range: ND – 11.5 pg/mL
(ND – 3.36 pmol/L)

Limitations

Multiple forms of immunoreactive calcitonin are present in the circulation of healthy subjects, patients with medullary thyroid carcinoma, and patients with other malignancies. These different forms of calcitonin (polymers and/or glycosylated forms) can have molecular weights varying from 3.4 to 70 KDa. Therefore, samples may exhibit varied response in an immunoassay and non-linear dilution.²⁴⁻²⁸

Some healthy individuals may be encountered who have elevated immunoreactive calcitonin levels.²

Because calcitonin is highly labile, special attention must be paid to proper specimen collection and preservation.^{1,3,7}

Where several samples are collected from a single patient, e.g. in pentagastrin stimulation testing or serial monitoring, all samples should be assayed by the same procedure.

Heterophilic antibodies in human serum can react with the immunoglobulins included in the assay components causing interference with *in vitro* immunoassays. [See Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Samples from patients routinely exposed to animals or animal serum products can demonstrate this type of interference potentially causing an anomalous result. These reagents have been formulated to minimize the risk of interference; however, potential interactions between rare sera and test components can occur. For diagnostic purposes, the results obtained from this assay should always be used in combination with the clinical examination, patient medical history, and other findings.

Performance Data

See Tables and Graphs for data *representative* of the assay's performance. Results are expressed in pg/mL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Conversion Factor:

pg/mL × 0.2926 → pmol/L

Reportable Range: 2 – 2,000 pg/mL
(WHO 2nd IRP 89/620).

High-dose Hook Effect:

None up to 25,000 pg/mL.

Analytical Sensitivity: 2 pg/mL
(0.6 pmol/L).

Precision: Samples were assayed in duplicate over the course of 20 days, two runs per day, for a total of 40 runs and 80 replicates. (See "Precision" table.)

Linearity: Samples were assayed under various dilutions. (See "Linearity" table for representative data.)

Recovery: Samples spiked 1 to 19 with three calcitonin solutions (600, 6,000 and 18,000 pg/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody is highly specific for calcitonin. (See "Specificity" table.)

Bilirubin: Presence of conjugated and unconjugated bilirubin in concentrations up to 200 mg/L has no effect on results, within the precision of the assay.

Hemolysis: Presence of hemoglobin in concentrations up to 512 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 3,000 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Alternate Sample Type: To assess the effect of alternate sample types, blood was collected from 16 volunteers into plain, heparinized, EDTA and Becton Dickinson SST[®] vacutainer tubes. Equal volumes of the matched samples were spiked with various concentrations of calcitonin, to obtain values throughout the calibration range of the assay, and then assayed by the IMMULITE 2000 Calcitonin procedure.

(Heparin) = 0.99 (Serum) + 3.6 pg/mL
r = 0.999

(EDTA) = 0.79 (Serum) – 16.1 pg/mL
r = 0.993

(SST) = 1.02 (Plain Serum) – 5.2 pg/mL
r = 0.999

Means:

542 pg/mL (Plain Serum)
535 pg/mL (Heparin)
413 pg/mL (EDTA)
549 pg/mL (SST)

Method Comparison 1: The assay was compared to DPC's IMMULITE Calcitonin on 150 samples. (Concentration range: approximately up to 1,500 pg/mL. See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 1.08 (IML) – 9.6 pg/mL
r = 0.991

Means:

265 pg/mL (IMMULITE 2000)
253 pg/mL (IMMULITE)

Method Comparison 2: The assay was also compared to a commercially available assay (Kit A) on 67 samples. (Concentration range: approximately up to 1,500 pg/mL. See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 0.81 (Kit A) – 0.4 pg/mL
r = 0.982

Means:

193 pg/mL (IMMULITE 2000)
239 pg/mL (Kit A)

References

1) Austin L, Heath H. Calcitonin; physiology and pathophysiology. *New Engl J Med* 1981;304:269-78. 2) Body J-J, Heath H. 'Nonspecific' increases in plasma immunoreactive calcitonin in healthy individuals. *Clin Chem* 1984;30:511-4. 3) Catherwood BD, Deftos LJ. General principles, problems, and interpretation in the radioimmunoassay of calcitonin and parathyroid hormone. In: Bikle DD, editor. *Assay of calcium-regulating Hormones*. New York: Springer-Verlag, 1983: 151-68. 4) Charpin C, et al. Calcitonin, somatostatin and ACTH immunoreactive cells in a case of familial bilateral thyroid medullary carcinoma. *Cancer* 1982;50:1806-14. 5) Deftos LJ, et al. Influence of age and sex on plasma calcitonin in human beings. *New Engl J Med* 1980;302:1351-3. 6) Heath H, Sizemore GW. Plasma calcitonin in normal man. *J Clin Invest* 1977;60:1135-40. 7) Heath H, Sizemore GW. Radioimmunoassay for calcitonin. *Clin Chem* 1982;28:1219-26. 8) Hillyard C, et al. Familial medullary thyroid carcinoma. *Lancet* 1978;i:1009-11. 9) Hillyard C, et al. Immunoreactive calcitonin in leukaemia. *Br Med*

J 1979;2:1392-93. 10) Hillyard C, Stevenson J. Calcitonin as a tumour marker. *Ligand Rev* 1980 (Spring);2(1):31-3. 11) Milhaud G. Ectopic secretion of calcitonin. In: Pecile A, editor. *Calcitonin* 1980. Amsterdam: Excerpta Medica, 1981: 154-69. 12) Mulder H, Hackeng WHL. Ectopic secretion of calcitonin. *Acta Med Scand* 1978;204:253-6. 13) Mulder H, et al. Hypercalcitoninaemia in patients with chronic inflammatory disease. *Neth J Med* 1980;23:129-31. 14) Parthemore J, Deftos LJ. Calcitonin secretion in normal human subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1978;47:184-8. 15) Schwartz KE, et al. Calcitonin in nonthyroidal cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 1979;49:438-44. 16) Sizemore GW, Go VLW. Stimulation tests for diagnosis of medullary thyroid carcinoma. *Mayo Clin Proc* 1975;50:53-6. 17) Stephanas AV, et al. Medullary thyroid carcinoma; importance of serial serum calcitonin measurements. *Cancer* 1979;43:825-37. 18) Toffaletti J. Calcitonin. *Clinical Chemistry News* 1984 (July);10(7):20-1, 27. 19) Wallach S, et al. Plasma calcitonin as a marker of disease activity in patients with small cell carcinoma of the lung. *J Clin Endocrinol Metab* 1981;53:602-6. 20) Wells SA. Provocative agents and the diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland. *Ann Surg* 1978;188:139-41. 21) Wells SA, et al. The importance of early diagnosis in patients with hereditary medullary thyroid carcinoma. *Ann Surg* 1982;195:595-9. 22) National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard. 4th ed. NCCLS Document H3-A4, Wayne, PA: NCCLS, 1998. 23) Tietz NW, editor. *Clinical guide to laboratory tests*. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders 1995: 98. 24) Golzman D, Tischler AS. Characterization of the immunochemical forms of calcitonin released by a medullary thyroid carcinoma in tissue culture. *J Clin Invest* 1978 Feb; 61:449-58. 25) Becker KL, Snider RH, Silva OL, Moore CF. Calcitonin heterogeneity in lung cancer and medullary thyroid cancer. *Acta Endocrinol* 1978 Sep; 89(1):89-99. 26) Zajac JD, Martin TJ, Hudson P, Niall H, Jacobs JW. Biosynthesis of calcitonin by human lung cancer cells. *Endocrinology* 1985 Feb; 116(2):749-55. 27) Becker KL, Gazdar AF, Carney DN, Snider RH, Moore CF, Silva OL. Calcitonin secretion by continuous cultures of small cell carcinoma of the lung: incidence and immunoheterogeneity studies. *Cancer Lett* 1983 Mar; 18(2):179-85. 28) Bertagna XY, Nicholson WE, Pettengill OS, Sorenson GD, Mount CD, Orth DN. Ectopic production of high molecular weight calcitonin and corticotropin by human small cell carcinoma cells in tissue culture: evidence for separate precursors. *J Clin Endocrinol Metab* 1978 Dec; 47(6):1390-3.

Technical Assistance

In the United States, Contact DPC's Technical Services department.

Tel: 800.372.1782 or 973.927.2828
 Fax: 973.927.4101. Outside the United States, contact your National Distributor.

Manufactured by EURO/DPC Ltd. under a Quality System registered to ISO 13485:2003.

Tables and Graphs

Precision (pg/mL)

	Mean ³	Within-Run ¹			Total ²	
		SD ⁴	CV ⁵	SD	CV	
1	11.5	1.8	15.7%	1.8	15.7%	
2	159	9.8	6.2%	11	6.9%	
3	199	6.7	3.4%	6.6	3.3%	
4	244	10	4.1%	12	4.9%	
5	1,057	36	3.4%	53	5.0%	
6	1,628	46	2.8%	98	6.0%	

Linearity (pg/mL)

	Dilution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	8 in 8 ⁵	100	—	—
	4 in 8	52.2	50	104%
	2 in 8	27.2	25	109%
	1 in 8	14.7	12.5	118%
2	8 in 8	198	—	—
	4 in 8	104	99	105%
	2 in 8	52	50	104%
	1 in 8	28	25	113%
3	8 in 8	418	—	—
	4 in 8	221	209	106%
	2 in 8	113	105	108%
	1 in 8	55	52	106%
4	8 in 8	910	—	—
	4 in 8	482	455	106%
	2 in 8	227	228	100%
	1 in 8	121	114	106%
5	8 in 8	1,606	—	—
	4 in 8	813	803	101%
	2 in 8	402	402	100%
	1 in 8	204	201	101%

Recovery (pg/mL)

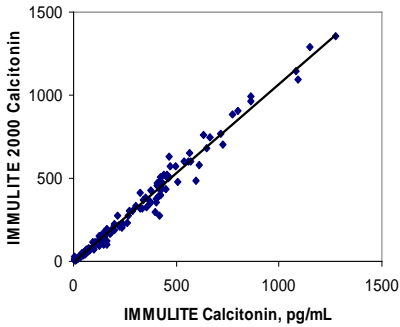
	Solution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	—	0	—	—
	A	25.9	30	86%
	B	296	300	99%
2	—	13.4	—	—
	A	36.2	42.7	85%
	B	286	313	91%
3	—	213	—	—
	A	225	232	97%
	B	477	502	95%
4	—	470	—	—
	A	457	477	96%
	B	722	747	97%
5	—	1,335	1,347	99%
	A	815	—	—
	B	786	805	98%
6	—	1,066	1,075	99%
	A	1,066	1,075	99%
	B	1,666	1,675	99%

Specificity

Compound ¹	pg/mL Added ²	Apparent % Cross-reactivity ³	% reactivity ⁴
ACTH	100,000	ND	ND
C-Peptide	40,000,000	ND	ND
Insulin	33,000,000	ND	ND
HGH	910,000	ND	ND
Prolactin	1,000,000	ND	ND
PTH	150,000	ND	ND
TSH	140,000	ND	ND
Salmon Calcitonin	50,000	ND	ND
Pre-Procalcitonin	500,000	ND	ND
Gastrin (G-17)	2,000,000	ND	ND
Human Big Gastrin	1,000,000	ND	ND
CCK	10,000,000	ND	ND

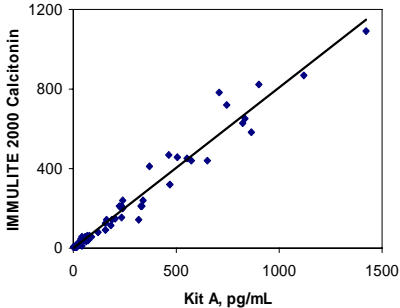
ND: not detectable.⁵

Method Comparison 1



(IML 2000) = 1.08 (IML) – 9.6 pg/mL
 $r = 0.991$

Method Comparison 2



(IML 2000) = 0.81 (Kit A) – 0.4 pg/mL
 $r = 0.982$

Deutsch. Precision: ¹Intra-Assay, ²Gesamt, ³Mittelwert, ⁴S (Standardabweichung), ⁵CV (Variationskoeffizient). Linearity: ¹Verdünnung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E, ⁵8 in 8. Recovery: ¹Lösung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E. Specificity: ¹Verbindung, ²zugesezte Menge, ³Gemessene Konzentration, ⁴% Kreuzreaktivität, ⁵NN: Nicht nachweisbar. Method Comparison: Calcitonin: Calcitonin.

Español. Precision: ¹Intraensayo, ²Total, ³Media, ⁴DS, ⁵CV. Linearity: ¹Dilución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵8 en 8. Recovery: ¹Solución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. Specificity: ¹Compuesto, ²Cantidad añadida, ³Concentración aparente, ⁴% Reacción cruzada, ⁵ND: no detectable. Method Comparison: Calcitonin: Calcitonina.

Français. Precision: ¹Intraessai, ²Total, ³Moyenne, ⁴SD, ⁵CV. Linearity: Dilution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A, ⁵8 dans 8. Recovery: ¹Solution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A. Specificity: ¹Composé, ²ajouté, ³Concentration apparente, ⁴Réaction croisée %.

⁵ND: non détectable. Method Comparison: Calcitonin: Calcitonine.

Italiano. Precision: ¹Intra-serie, ²Totale, ³Media, ⁴SD (Deviazione Standard), ⁵CV (Coefficiente di Variazione). Linearity: ¹Diluizione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A, ⁵8 in 8. Recovery: ¹Soluzione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A. Specificity: ¹Composto, ²quantità aggiunta, ³Concentrazione apparente, ⁴Percentuale di Crossreattività, ⁵ND: non determinabile. Method Comparison: Calcitonin: Calcitonina.

Português. Precision: ¹Entre-ensaios, ²Total, ³Média, ⁴Desvio padrão, ⁵Coefficiente de variação. Linearity: ¹Diluição, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵8 em 8. Recovery: ¹Solução, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. Specificity: ¹Composto, ²Quantidade adicionada, ³Apparent Concentration, ⁴Percentagem de reação cruzada, ⁵ND: não detectável. Method Comparison: Calcitonin: Calcitonina.

Deutsch

IMMULITE 2000 Calcitonin

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme – zur quantitativen Messung von Calcitonin (Thyreocalcitonin) in Serum oder Heparin-Plasma, als Hilfestellung bei der Diagnose und Behandlung von Erkrankungen der Schilddrüse und der Nebenschilddrüse, einschließlich der Karzinome und Hyperparathyreoidismus.

Artikelnummern: **L2KCL2** (200 Tests)

Testcode: **CAL** Farbe: **dunkelrosa**

Klinische Relevanz

Humanes Calcitonin ist ein einkettiges Peptid-Hormon, das primär in der Schilddrüse gebildet und von den parafollikulären C-Zellen sezerniert wird.¹ Die Calcitonin-Kette ist 32 Aminosäuren lang und hat ein Molekulargewicht von 3 418 Da.¹ Unter pathologischen Umständen zeigt das Hormon spontan eine Heterogenität. Die Halbwertszeit im Plasma beträgt ca. 10 Minuten. Der Abbau findet vorwiegend in den Nieren, aber in geringem Ausmaß auch durch Faktoren im Plasma statt. Daher sollte Probenmaterial so schnell wie möglich nach der Entnahme eingefroren werden.^{1,3}

Die physiologische Signifikanz des Calcitonins ist noch nicht ganz geklärt, es hat aber einen geringen Effekt bei der Senkung von Kalzium- und Phosphat-Spiegeln. Die Sekretion wird normalerweise durch Steigen und Sinken der Kalzium-Spiegel reguliert. Ein Anstieg des Kalzium-Spiegels führt zu einem Anstieg des Calcitonin-Spiegels.^{1,18}

Ein Basalbereich von 3–19 pg/ml bei gesunden Erwachsenen, basierend auf im RIA untersuchten extrahierten Plasmaproben, wurde berichtet.² Erhöhten Spiegeln (größer als 100 pg/ml) begegnet man unter den verschiedensten pathologischen Bedingungen, besonders bei dem Medullärem Schilddrüsen Karzinom, einem Tumor der Calcitonin-sekretierenden C-Zellen der Schilddrüse. Man findet Erhöhungen des Peptids auch bei leukämischen und myeloproliferativen Störungen.⁹

In Ergänzung dazu kann es auch von ektopischen Tumoren produziert werden, z.B. denen der Lunge oder der Brust.^{10,11,12,15,19} Calcitonin-Bestimmungen scheinen aber bei der Diagnose dieser Krankheiten keine große Rolle zu spielen.

Erhöhungen wurden ebenso in Verbindung mit Hyperparathyreoidismus, Hypergastrinämie, Nierenversagen und chronischen Entzündungen gefunden.^{13,18}

Methodik

Der IMMULITE 2000 Calcitonin ist ein Festphasen, Enzym-markierter, Sandwich, immunometrischer Chemilumineszenz Assay.

Inkubationszyklen: 2 x 30 min.

Probengewinnung

Zur Ermittlung eines Basalwertes erfolgt die Blutentnahme üblicherweise morgens am nüchternen Patienten. Bei der Blutentnahme im Rahmen eines Stimulations-tests ist die Abnahmezeit relativ zum Beginn der Stimulation zu notieren.

EDTA-Plasma kann nicht eingesetzt werden.

Der Einsatz einer Ultrazentrifuge wird zur Klärung von lipämischen Proben empfohlen.

Bei hämolysierten Proben besteht die Möglichkeit einer unsachgemäßen

Handhabung vor Eintreffen im Labor, daher sind die Ergebnisse mit Vorsicht zu interpretieren.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnungen führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnungen vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter Antikoagulantien-therapie können eine verlängerte Gerinnungszeit aufweisen.

Blutentnahmeröhrchen von verschiedenen Herstellern können differierende Werte verursachen. Dies hängt von den verwendeten Materialien und Additiven (Gel oder physische Trennbarrieren, Gerinnungsaktivatoren und /oder Antikoagulantien) ab. IMMULITE 2000 Calcitonin sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 75 µl Serum oder Heparin-Plasma.

Lagerung: 15 Tage bei –20°C oder länger bei –70°C.²³ Sofort einfrieren.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *In-vitro*-Diagnostik.

Reagenzien: Bei 2–8°C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Chemilumineszenz-Substrat:

Kontamination und direkte Sonneneinstrahlung vermeiden. Siehe Packungsbeilage.

Wasser: Destilliertes oder deionisiertes Wasser verwenden.

Im Lieferumfang enthalten

Die Bestandteile sind aufeinander abgestimmt. Die Aufkleber auf der Innenverpackung werden zur Testdurchführung gebraucht.

Calcitonin Kugel-Container (L2CL12)

Barcodiert. 200 Kugeln, beschichtet mit Calcitonin-Antikörpern (monoklonal, Maus) Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar. **L2KCL2**: 1 Container.

Calcitonin Reagenzbehälter (L2CLA2)

Barcodiert. 11,5 ml alkalische Phosphatase (Kalb) konjugiert mit Calcitonin-Antikörpern (polyklonal, Ziege) in Proteinpuffer. Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar. **L2KCL2**: 1 Behälter.

Vor Gebrauch den Aufkleber an der Perforation abreißen, ohne dabei die Barcodierung zu beschädigen. Die Folie von der Oberseite des Containers entfernen. Die Folie von der Oberseite des Containers entfernen. Den Schiebedeckel nach unten in die Führung des Reagenziendeckels einrasten lassen.

Calcitonin Kalibratoren (LCLL, LCLH)

Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) mit lyophilisierten Calcitonin in einer Proteinpuffer-Matrix. Zum Gebrauch die Kalibratoren mit jeweils **3,0 ml** destilliertem bzw. deionisiertem Wasser auflösen. Aliquotieren und einfrieren. Nach Rekonstituierung bei –20°C für 3 Monate haltbar. **L2KCL2**: 1 Set.

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Glasröhrchen kleben, so dass die Barcodes vom Barcodereader des Systems gelesen werden können.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

Multidiluent 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Zur on-board Verdünnung von Patientproben. Eine Flasche mit einem gebrauchsfertigen Konzentrat aus einer nichthumanen Protein/ Puffer-Matrix versetzt stoffen, mit Konservierungsmittel. Lagerung: 30 Tage (nach Öffnen) bei 2–8°C oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert). **L2M2Z**: 25 ml **L2M2Z4**: 55 ml

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16x100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.

L2M2Z: 3 Etiketten. **L2M2Z4**: 5 Etiketten.

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul

L2PWSM: Waschmodul

L2KPM: Reinigungsmodul

LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße

L2ZT: 250 Probenverdünnungs-röhrchen (16 x 100 mm)

L2ZC: 250 Deckel für die Probenverdünnungs-röhrchen

LCLCM: Proteinpuffer basierendes Kontrollmodul (2 Konzentrationen).

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser;
Teströhrchen; Kontrollen.

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im IMMULITE 2000-Handbuch beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Hinweise zur Vorbereitung, täglichen Inbetriebnahme des Systems, der Kalibrierung sowie Verfahren zur Test- und Qualitätskontrolle entnehmen Sie bitte dem IMMULITE 2000-Handbuch.

Empfohlenes Kalibrationsintervall: 4 Wochen.

Qualitätskontrollseren: Kontrollen oder Pool-Seren mit Calcitonin in zumindest zwei Konzentrationen (niedrige und hohe) verwenden.

Referenzwerte

Serumproben von 120 männlichen und 90 weiblichen gesunden Probanden wurden mit dem IMMULITE 2000 Calcitonin Assay gemessen.

Männer: oberer 95%-Bereich: 8,4 pg/ml (2,46 pmol/l)

absoluter Bereich: n.n. – 18,2 pg/ml (n.n. – 5,33 pmol/l)

Frauen: oberer 95%-Bereich: 5,0 pg/ml (1,46 pmol/l)

absoluter Bereich: n.n. –
11,5 pg/ml (n.n. – 3,36 pmol/l)

Diese Grenzwerte sind *lediglich als Richtlinien* aufzufassen. Jedes Labor sollte seine eigenen Referenzbereiche etablieren.

Grenzen der Methode

Multiple Formen des immunreaktiven Calcitonins zirkulieren im Kreislauf bei Gesunden, bei Patienten mit medullären Schilddrüsenkarzinom und bei Patienten mit anderen malignen Erkrankungen. Diese unterschiedlichen Formen des Calcitonins (Polymere und/oder andere glykolisierte Formen) können verschiedene MG von 3,4 – 70 KDa aufweisen. Deshalb können Proben unterschiedlich in einem Immunoassay reagieren und nicht-lineare Verdünnungen aufweisen.²⁴⁻²⁸

Es können bei einigen Gesunden erhöhte immunoreaktive Calcitonin-Spiegel auftreten.²

Aufgrund der geringen Stabilität des Calcitonins, muss auf eine sachgerechte Probenabnahme und –Lagerung besonders geachtet werden.^{1,3,7}

Sollen mehrere Proben von einem einzelnen Patienten gewonnen werden, z.B. bei der Pentagastrin-Stimulation oder einer fortgesetzten Überwachung, empfiehlt sich eine Untersuchung aller Proben mit einem Assay.

Heterophile Antikörper in Humanseren können mit Immunglobulinen aus den Assaykomponenten reagieren und Interferenzerscheinungen innerhalb des *in vitro* Immunoassays verursachen. (Clin. Chem. 1988;34:27-33) Proben von Patienten, die häufig mit Tier- bzw. Tierserumprodukten zu tun haben, können die erwähnten Interferenzen verursachen und zu anomalen Resultaten führen. Die verwendeten Reagenzien sind so konzipiert, dass das Risiko einer Interferenz mit den zu messenden Proben minimiert ist. Dennoch können potentiell Interaktionen zwischen seltenen Seren und den Testkomponenten auftreten. Zu diagnostischen Zwecken sollten die mit dem Assay erhaltenen Ergebnisse immer in Kombination mit der klinischen Untersuchung, der Patientenanamnese und anderen Befunden gesehen werden.

Leistungsdaten

Siehe Tabellen und Grafiken mit *repräsentativen* Daten für den Assay. Die Ergebnisse sind als pg/ml ausgedrückt. (Alle Daten wurden - sofern nicht anders angegeben - aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Umrechnungsfaktor:

pg/ml × 0,2926 → pmol/l

Messbereich:

2 – 2 000 pg/ml (WHO 2nd IRP 89/620)

High-Dose-Hook-Effect:

keiner bis 25 000 pg/ml.

Analytische Sensitivität: 2 pg/ml
(0,6 pmol/L)

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Testansätzen in Doppelbestimmung gemessen (insgesamt 40 Bestimmungen und 80 Einzelmessungen). (Siehe Tabelle "Precision".)

Linearität: Proben wurden in verschiedenen Verdünnungen getestet. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Linearity“.)

Wiederfindung: Proben wurden mit drei Calcitonin-Lösungen (600, 6 000 und 18 000 pg/ml) im Verhältnis von 1:19 versetzt. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Recovery“.)

Spezifität: Hochspezifischer Calcitonin-Antikörper. (siehe Tabelle „Specificity“.)

Bilirubin: Konjugiertes und unkonjugiertes Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Messung, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 512 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride hat in Konzentrationen bis zu 3 000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Alternativer Probenotyp: Um den Einfluss von alternativen Probenotypen zu überprüfen, wurde 16 Freiwilligen Blut in Röhrchen ohne Zusatz, Heparin-

Röhrchen, EDTA-Röhrchen und in Becton Dickinson SST[®] Vacutainer-Röhrchen entnommen. Gleiche Volumen derselben Probe wurden mit verschiedenen Konzentrationen an Calcitonin versetzt, um Werte über den gesamten Kalibrationsbereich des Assays zu erhalten, und wurden anschließend mit dem IMMULITE 2000 Calcitonin Assay bestimmt. Durch lineare Regression:

(Heparin) = 0,99 (Serum) + 3,6 pg/ml
r = 0,999

(EDTA) = 0,79 (Serum) – 16,1 pg/ml
r = 0,993

(SST) = 1,02 (reines Serum) – 5,2 pg/ml
r = 0,999

Mittelwerte:

542 pg/ml (reines Serum)

535 pg/ml (Heparin)

413 pg/ml (EDTA)

549 pg/ml (SST)

Methodenvergleich 1: Der Assay wurde anhand von 150 Proben mit dem IMMULITE Calcitonin Assay von DPC verglichen. (Konzentrationsbereich: bis ca. 1 500 pg/ml. Siehe Grafik.) Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 1,08 (IML) – 9,6 pg/ml
r = 0,991

Mittelwerte:

265 pg/ml (IMMULITE 2000)

253 pg/ml (IMMULITE)

Methodenvergleich 2: Der Assay wurde anhand von 67 Proben ebenfalls mit einem kommerziell erhältlichen Calcitonin-Assay (Kit A) verglichen. (Konzentrationsbereich: bis ca. 1 500 pg/ml. Siehe Grafik.) Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 0,81 (Kit A) – 0,4 pg/ml
r = 0,982

Mittelwerte:

193 pg/ml (IMMULITE 2000)

239 pg/ml (Kit A)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre DPC Niederlassung.

Hergestellt von Euro/DPC Ltd. unter dem Qualitätssystem ISO 13485:2003.

Español

Calcitonina IMMULITE 2000

Utilidad del análisis: Para su uso en el diagnóstico *in vitro* con el analizador IMMULITE 2000— para la medida cuantitativa de calcitonina (tirocalcitonina) en suero humano o plasma heparinizado, como ayuda en la diagnosis y tratamiento de enfermedades relacionadas con las glándulas tiroides y paratiroides, incluyendo carcinoma e hiperparatiroidismo.

Referencia: **L2KCL2** (200 tests)

Código del Test: **CAL**

Código de Color: **Rosa oscuro**

Resumen y Explicación del Test

La calcitonina humana es una hormona con una única cadena polipeptídica producida preliminarmente en la glándula tiroides, donde es secretada por la células "C" parafoliculares más que por las células secretoras de tiroxina.¹ La cadena de calcitonina tiene una longitud de 32 aminoácidos, y tiene una masa molecular de 3 418 daltons.¹ En condiciones patológicas, la hormona exhibe un cierto grado de heterogeneidad. Tiene una vida media en plasma de aproximadamente unos 10 minutos. La calcitonina es preliminarmente metabolizada por los riñones y también es degradada en parte por un factor plasmático, por lo que es importante congelar las muestras lo antes posible después de ser tomadas.^{1,3}

El significancia fisiológica de la calcitonina es desconocida, pero tiene un pequeño efecto disminuyendo los niveles de calcio y fósforo. Su secreción está normalmente modulada por la subida y bajada de los niveles de calcio. El incremento de los niveles de calcio circulantes conduce al incremento de los niveles de calcitonina.^{1,18}

El rango basal en estado de ayuno es de 3–19 pg/ml en adultos sanos, según datos obtenidos mediante radioinmunoensayo utilizando plasma.² Los niveles elevados (mayores de 100 pg/ml) se pueden encontrar en una gran variedad de condiciones patológicas, más

notablemente en carcinoma medular de tiroides, un tumor de las células secretoras del tiroides. También se encuentra frecuentemente elevado en leucemia y desórdenes mieloproliferativos.⁹

Además, puede ser producida ectópicamente por tumores, e.j. aquellos en pulmón y mama.^{10,11,12,15,19} Su medida, sin embargo, no parece tener valor en la diagnosis de dichos desórnes.

También se pueden ver elevados sus valores en hiperparatiroidismo, hipergastrinemia, fallo renal y enfermedad inflamatoria crónica.^{13,18}

Principio del análisis

Calcitonina IMMULITE 2000 es un ensayo en fase sólida, quimioluminiscente e inmunométrico con dos sitios, marcado enzimáticamente.

Ciclos de incubación: 2 x 30 minutos.

Recogida de la muestra

Normalmente se recogen las muestras por la mañana y en ayuno para establecer los valores basales. Si las muestras son recogidas como parte de una prueba de provocación con calcio o pentagastrina, se debe anotar el tiempo de la extracción.

No se recomienda utilizar muestras con EDTA debido a que tiene efecto sobre el ensayo.

Se recomienda el uso de una ultracentrífuga para aclarar las muestras lipémicas.

Las muestras hemolizadas podrían indicar una mala manipulación de la muestra antes de ser recibida por el laboratorio; en este caso, los resultados deben interpretarse con precaución.

La centrifugación de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erróneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulación.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir

valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El ensayo Calcitonina IMMULITE 2000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos. Para obtener detalles sobre los tipos tubos que se han analizado, consulte la sección de Tipos de Muestras Alternativos.

Volumen requerido: 75 µl de suero o plasma heparinizado.

Almacenamiento: Estable a -20°C durante 15 días o a -70°C para almacenamiento más prolongado.²³ Congelar inmediatamente.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Reactivos: Almacenar a 2-8°C. Desechar de acuerdo a la legislación en vigor.

Siga las precauciones universales y manipule todos los componentes como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Los materiales derivados de sangre humana han sido analizados y son negativos para sífilis; para anticuerpos frente al HIV 1 y 2; para el antígeno de superficie de hepatitis B y para los anticuerpos de hepatitis C.

Sustrato quimioluminiscente: Evite la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

Agua: Usar agua destilada o desionizada.

Materiales suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

Cartucho de Bolas de Calcitonina (L2CL12)

Con código de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpo monoclonal de ratón anti-calcitonina. Estable a 2-8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KCL2: 1 cartucho.

Vial de Reactivo de Calcitonina (L2CLA2)

Con código de barras. 11,5 ml de fosfatasa alcalina (de intestino bovino) conjugada con anticuerpo policlonal de cabra anti-calcitonina, en tampón protéico.

Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KCL2: 1 vial.

Antes de usar, cortar la parte superior de la etiqueta en la perforación, sin dañar el código de barras. Quitar el precinto del orificio del vial; encajar la cubierta deslizante en las rampas de la tapa del reactivo.

Ajustadores de Calcitonina (LCLL, LCLH)

Dos viales (Alto y Bajo) de calcitonina liofilizada, en un tampón de matriz protéica. Reconstituir cada vial con **3,0 ml** de agua destilada o desionizada. Alicuotar y congelar. Estable a –20°C durante 3 meses después de la reconstitución.

L2KCL2: 1 juego.

Antes de hacer un ajuste, colocar las etiquetas a las alícuotas apropiadas (suministradas con el kit) sobre tubos de ensayo, de forma tal que los códigos de barras puedan ser leídos por el lector.

Componentes del kit que se suministran por separado

Multidiluyente 2 (L2M2Z L2M2Z4)

Para la dilución en el equipo de las muestras de pacientes. Un vial de un concentrado listo para su uso de una matriz proteica no humana, con conservante. Conservación: 30 días (después de su apertura) a 2–8°C o 6 meses (alicuotado) a –20°C.

L2M2Z: 25 ml **L2M2Z4:** 55 ml

Se suministran etiquetas con códigos de barras para usarse con este diluyente. Antes de uso, colocar la etiqueta con el código de barras en un tubo de ensayo de 16 x 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.

L2M2Z: 3 etiquetas

L2M2Z4: 5 etiquetas

L2SUBM: Substrato quimioluminiscente

L2PWSM: Lavado de sonda

L2KPM: Kit de limpieza de sonda

LRXT: Tubos de reacción (desechables)

L2ZT: 250 Tubos De Prueba Del Diluyente De la Muestra (16 x 100 mm)

L2ZC: 250 Casquillos Del Tubo Del Diluyente De la Muestra

LCLCM: Módulo de controles de matriz protéica, con dos niveles.

También necesarios

Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles.

Ensayo

Nótese que para una óptima ejecución, es importante realizar los procedimientos de mantenimiento rutinario definidos en el manual del operador IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del operador de IMMULITE 2000 para: la preparación, instalación, dilución, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:
4 semanas.

Muestras de Control de Calidad: Usar controles o pools de calcitonina con al menos dos niveles (bajo y alto).

Valores esperados

Muestras séricas de 120 hombres y 90 mujeres, en aparente buen estado de salud, fueron analizadas con el procedimiento IMMULITE 2000 Calcitonina.

Hombres: Límite superior 95%: 8,4 pg/ml (2,46 pmol/l)
Rango Total: ND – 18,2 pg/ml (ND – 5,33 pmol/l)

Mujeres: Límite superior 95%: 5,0 pg/ml (1,46 pmol/l)
Rango Total: ND – 11,5 pg/ml (ND – 3,36 pmol/l)

Estos límites han de considerarse *sólo como una guía*. Cada laboratorio deberá establecer sus propios intervalos de referencia.

Limitaciones

En la circulación de sujetos sanos, pacientes de carcinoma medular de tiroides, y pacientes con otros tumores se pueden encontrar múltiples formas inmunoreactivas de calcitonina. Estas formas diferentes de calcitonina (polímeros y/o formas glicosiladas) pueden tener pesos moleculares que varíen de 3,4 a 70 KDa. Por tanto, las muestras podrían mostrar una respuesta variable en un inmunoensayo y respuestas no lineales en dilución.²⁴⁻²⁸

Se ha de tener en cuenta que existen individuos sanos con niveles de calcitonina elevados debido a inmunoreactividad.²

Debido a que la calcitonina es altamente lábil, se debe prestar especial atención en que la recogida y conservación de las muestras sean adecuadas.^{1,3,7}

Todas las muestras extraídas a un mismo paciente en pruebas como la estimulación con pentagastrina o monitorizaciones seriadas, deben ser analizadas mediante el mismo procedimiento.

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasione un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia, no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

Características analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo, consulte las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en pg/ml. (A no ser que se indique lo contrario, todos los resultados fueron generados en muestras de suero recogidas en tubos sin geles o activadores de la coagulación.)

Factor de Conversión:

pg/ml \times 0,2926 \rightarrow pmol/L

Rango informable: 2 – 2 000 pg/ml (WHO 2nd IRP 89/620),

Efecto de gancho a altas dosis:

Ninguno hasta 25 000 pg/ml.

Sensibilidad analítico: 2 pg/ml (0,6 pmol/L),

Precisión: Las muestras fueron procesadas por duplicado durante 20 días, en dos tandas de trabajo por día, para un total de 40 tandas y 80 replicados. (Ver tabla de "Precisión").

Linealidad: Las muestras fueron analizadas con varias diluciones. (Véase la tabla "Linealidad" para resultados representativos.)

Recuperación: Se ensayaron muestras, de la 1 a la 19, sobrecargadas con tres soluciones de calcitonina (600, 6 000 y 18 000 pg/ml). (Ver la tabla "Recuperación" para resultados representativos.)

Especificidad: El anticuerpo es altamente específico para calcitonina. (Véase la tabla "Especificidad".)

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina conjugada y libre en concentraciones hasta 200 mg/l no tiene efecto en el ensayo, en lo concerniente a la precisión del ensayo.

Hemólisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 512 mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Lipemia: La presencia de triglicéridos en concentraciones hasta 3 000 mg/dl no tiene efecto alguno en los resultados, en lo correspondiente a la precisión del ensayo.

Tipo de Muestra Alternativa: Para evaluar el efecto de los tipos de muestra alternativa, se recogieron muestras de 16 voluntarios en tubos secos, heparinizados, con EDTA y tubos vacutainer Becton Dickinson SST[®]. Se sobrecargaron volúmenes iguales de dichas muestras con varias concentraciones de calcitonina para obtener valores a lo largo de todo el rango de calibración del ensayo, y después fueron analizadas con el procedimiento Calcitonina IMMULITE 2000.

(Heparina) = 0,99 (Suero) + 3,6 pg/ml
r = 0,999

(EDTA) = 0,79 (Suero) – 16,1 pg/ml
r = 0,993

(SST) = 1,02 (Suero) – 5,2 pg/ml
r = 0,999

Medias:

542 pg/ml (Suero)
535 pg/ml (Heparina)

413 pg/ml (EDTA)
549 pg/ml (SST)

Método Comparativo 1: El ensayo fue comparado con la Calcitonina IMMULITE de DPC utilizando 150 muestras.

(Intervalo de concentración: aproximadamente hasta 1 500 pg/ml. Véase el gráfico.) Por regresión lineal: regresión lineal:

(IML 2000) = 1,08 (IML) – 9,6 pg/ml
r = 0,991

Medias:
265 pg/ml (IMMULITE 2000)
253 pg/ml (IMMULITE)

Método Comparativo 2: El ensayo fue comparado con un kit comercialmente disponible (kit A) utilizando 67 muestras. (Intervalo de concentración: aproximadamente hasta 1 500 pg/ml. Véase el gráfico.) Por regresión lineal:

(IML 2000) = 0,81 (Kit A) – 0,4 pg/ml
r = 0,982

Medias:
193 pg/ml (IMMULITE 2000)
239 pg/ml (Kit A)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

Fabricado por EURO/DPC Ltd. bajo un Sistema de Calidad acorde con la ISO 13485:2003.

Français

IMMULITE 2000 Calcitonine

Domaine d'utilisation : Réservé à un usage diagnostic *in vitro* avec l'analyseur IMMULITE 2000 pour la mesure quantitative de la calcitonine (thyrocalcitonine) dans le sérum humain ou le plasma hépariné. Ce test constitue une aide au diagnostic et au traitement des maladies mettant en cause les glandes thyroïde et parathyroïdes, incluant le carcinome et l'hyperparathyroïdie.

Référence catalogue : **L2KCL2** (200 tests)

Code produit : **CAL**
Code couleur : **rose foncé**

Introduction

La Calcitonine humaine est une hormone peptidique constituée d'une seule chaîne produite dans la glande thyroïde où elle est sécrétée par les cellules parafolliculaires C plutôt que par les cellules sécrétrices de thyroxine. La Calcitonine est une chaîne de 32 acide aminés et a un poids moléculaire de 3 418 daltons.¹ Dans les conditions pathologiques, l'hormone présente un certain degré d'hétérogénéité. La demi-vie dans le plasma est approximativement de 10 minutes. Métabolisée de façon prédominante dans le rein, la Calcitonine est aussi dégradée par un facteur plasmatique, rendant importante la congélation des échantillons rapidement après prélèvement.^{1,3}

La signification physiologique de la Calcitonine n'est pas certaine mais elle doit avoir un modeste effet sur le calcium et le phosphore en les abaissant. Sa sécrétion est normalement modulée par les augmentations et diminutions du taux de calcium: une augmentation de calcium circulant entraînant une augmentation de Calcitonine.^{1,18}

Un taux basal à jeun de 3 à 19 pg/ml pour des adultes en bonne santé a été rapporté, basé sur un dosage radio-isotopique sur plasma extrait.² Des taux élevés (supérieur à 100 pg/ml) sont rencontrés dans différentes conditions pathologiques, notamment dans le cancer médullaire de la thyroïde, une tumeur des cellules sécrétrices de Calcitonine de la thyroïde. Le peptide est aussi fréquemment élevé dans les désordres leucémiques et myéloprolifératifs.⁹

Il peut aussi être produit de façon ectopique par des tumeurs telles que celles du poumon ou du sein.^{10,11,12,15,19} Son dosage n'est cependant pas pris en compte dans le diagnostic de ces désordres.

Des élévations peuvent aussi être concomitantes à des hyperparathyroïdies, hypergastrinémie, désordre rénal et maladies inflammatoires chroniques.^{13,18}

Principe du test

IMMULITE 2000 Calcitonine est un dosage immunométrique chimiluminescent enzymatique, en phase solide, en deux étapes.

Cycles d'incubation : 2 x 30 minutes.

Recueil des échantillons

Un échantillon prélevé le matin, à jeun, est habituellement requis afin d'établir les valeurs de base. Si les échantillons sont prélevés dans le cadre d'un test de provocation, l'heure de prélèvement doit être notée par rapport à l'injection de calcium ou de pentagastrine.

L'EDTA à un effet sur le dosage et n'est pas recommandé comme type d'échantillon.

Il est recommandé de clarifier les échantillons hyperlipémiqques par ultracentrifugation.

Des échantillons hémolysés peuvent être révélateurs d'une préparation inadéquate du prélèvement avant son envoi au laboratoire ; il faudra donc interpréter les résultats avec prudence.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dus à la présence de fibrine, s'assurer de la formation complète du caillot avant de centrifuger les échantillons. Certains échantillons, en particulier ceux provenant de patients sous anti-coagulants, peuvent nécessiter un temps plus long pour la formation du caillot.

Des tubes pour prélèvements sanguins provenant de fabricants différents peuvent donner des résultats différents, selon les matériaux et additifs utilisés, y compris gels ou barrières physiques, activateurs de la coagulation et/ou anticoagulants. Le coffret Calcitonine IMMULITE 2000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles. Veuillez consulter le chapitre intitulé Autres Types d'Échantillons pour plus de renseignements sur les tubes qui ont été évalués.

Volume nécessaire : 75 µl de sérum ou de plasma hépariné.

Conservation : Stable pendant 15 jours à -20°C ou plus longtemps à -70°C.²³ Congeler immédiatement.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

Réactifs : Conserver à + 2-8°C. Éliminer les déchets conformément aux lois en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-VHC et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

Substrat chimiluminescent : Éviter toute contamination et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

Eau : utiliser de l'eau distillée ou désionisée.

Matériel fourni

Les composants de la trousse ne peuvent être utilisés que conjointement. Les étiquettes à l'intérieur du coffret sont nécessaires au dosage.

Cartouche de billes Calcitonine (L2CL12)

Avec code-barres. 200 billes revêtues d'anticorps monoclonal murin anti-calcitonine. Stable à +2/ +8 °C jusqu'à la date de péremption.

L2KCL2 : 1 cartouche.

Cartouche à réactif Calcitonine (L2CLA2)

Avec code-barre. 11,5 ml d'anticorps polyclonal de chèvre anti-calcitonine conjugué à de la phosphatase alcaline (intestins de veaux), dans un tampon protéique. Stable à +2/ +8 °C jusqu'à la date de péremption.

L2KCL2 : 1 cartouche.

Avant l'emploi, retirer la partie supérieure de l'étiquette au niveau des perforations en ayant soin de ne pas endommager le code-barres. Retirer le film protecteur situé sur la partie supérieure de la cartouche-réactif ; insérer le couvercle coulissant entre les glissières sur le dessus de la cartouche-réactif.

Ajusteurs Calcitonine (LCLL, LCLH)

Deux flacons (bas et haut) de calcitonine lyophilisée dans une matrice protéine/tampon. Reconstituer chaque flacon avec **3,0 ml** d'eau distillée ou

désionisée. Aliquoter et congeler. Stable à -20°C pendant 3 mois après la reconstitution.

L2KCL2 : 1 jeu.

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes en verre de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

Composants du coffret fournis séparément

Multi-diluant 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Pour la dilution à bord des échantillons de patients. Un flacon contenant une matrice concentrée de tampon / protéines non-humaines (prêt à l'emploi), avec conservateur. Stockage: 30 jours (après ouverture) à $+2^{\circ}\text{C}/+8^{\circ}\text{C}$ ou 6 mois (aliquoté) à -20°C .

L2M2Z : 25 ml **L2M2Z4** : 55 ml

Les étiquettes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16×100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.

L2M2Z : 3 étiquettes **L2M2Z4** : 5 étiquettes

L2SUBM : Substrat chimiluminescent

L2PWSM : Solution de lavage

L2KPM : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

LRXT : Godets réactionnels (jetables)

L2ZT : 250 Tubes À essai De Diluant échantillon (16×100 mm)

L2ZC: 250 Bouchons pour tubes de diluants

LCLCM : Contrôle à deux niveaux, à base de protéine/tampon.

Egalement requis

Eau distillée ou désionisée ; tubes ; Contrôles.

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel d'Utilisation IMMULITE 2000.

Se reporter au manuel d'utilisation de l'IMMULITE 2000 pour : la préparation, le démarrage du système, le dilution, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé : 4 semaines.

Echantillons Contrôle de Qualité :

Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux (bas et haut) de calcitonine

Valeurs de référence

Des échantillons sériques de 120 hommes et 90 femmes en bonne santé apparente ont été dosés avec la procédure IMMULITE 2000 Calcitonine.

Hommes : Upper 95%ile: 8,4 pg/ml
(2,46 pmol/l)
Domaine absolu: ND – 18,2 pg/m,
(ND – 5,33 pmol/l)

Femmes : Upper 95%ile: 5,0 pg/ml
(1,46 pmol/l)
Domaine absolu: ND – 11,5 pg/ml
(ND – 3,36 pmol/l)

Utiliser ces valeurs à *titre indicatif uniquement*. Chaque laboratoire devra établir ses propres valeurs de référence.

Limites

De multiples formes de calcitonine immunoréactive sont présentes dans la circulation de sujets en bonne santé, de patients avec cancer médullaire de la thyroïde, et de patients avec d'autres formes de tumeurs. Ces différentes formes de calcitonine (polymères et/ou formes glycosylées) peuvent avoir un poids moléculaire variant de 3,4 à 70 KDa. De ce fait, les échantillons peuvent montrer des réponses variées selon l'immunodosage et une absence de linéarité à la dilution.²⁴⁻²⁸

Il est possible de rencontrer des cas de personnes en bonne santé ayant des taux immunoréactifs élevés de calcitonine.²

Dans la mesure où la calcitonine est hautement labile, une attention particulière est requise concernant le prélèvement et les conditions de stockage.^{1,3,7}

Dans le cas où plusieurs échantillons sont prélevés sur un seul patient, par exemple lors d'un test de stimulation à la pentagastrine ou pour un suivi, ils doivent tous être testés avec la même procédure.

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec les immunodosages in vitro. [Voir Boscato

LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre de rares sérums et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances de ce test. Les résultats sont donnés en pg/ml. (En l'absence d'indication contraire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques recueillis en tubes, sans gel ni activateur de la coagulation.)

Facteur de conversion :

pg/ml \times 0,2926 \rightarrow pmol/L

Domaine de mesure : 2 – 2 000 pg/ml (WHO 2nd IRP 89/620)

Accoutumance aux doses élevées :

aucun jusqu'à 25 000 pg/ml.

Sensibilité analytique : 2 pg/ml (0,6 pmol/L)

Précision : les échantillons sont dosés en duplicata sur une période qui s'étend sur 20 jours, avec deux séries par jours, soit 40 séries et 80 replicata au total. (Voir le tableau "Precision".)

Test de dilution : Des échantillons ont été dosés à différentes concentrations. (Voir le tableau « Linearity » pour des données représentatives.)

Test de récupération : Des échantillons chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions de calcitonine (600, 6 000 et 18 000 pg/ml) ont été testés. (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : L'anticorps utilisé est hautement spécifique de calcitonine. (Voir le tableau « Specificity ».)

Bilirubine : La présence de bilirubine, conjuguée ou non, n'a aucun effet sur le dosage ni sur sa précision si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

Hémolyse : La présence d'hémoglobine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 512 mg/dl.

Lipémie : La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 3 000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

Autres types d'échantillons : Afin de déterminer l'effet de l'utilisation d'autres types d'échantillons, du sang de 16 volontaires a été prélevé sur tubes secs, héparinés, EDTA et sur tubes vacutainers Becton Dickinson SST[®]. Des volumes égaux de ces échantillons ont été chargés avec différentes concentrations de calcitonine afin d'obtenir des valeurs incluses dans le domaine de mesure du dosage, et testés avec la procédure IMMULITE 2000 Calcitonine.

(Héparine) = 0,99 (Sérum) + 3,6 pg/ml
r = 0,999

(EDTA) = 0,79 (Sérum) – 16,1 pg/ml
r = 0,993

(SST) = 1,02 (Plain Sérum) – 5,2 pg/ml
r = 0,999

Moyennes :

542 pg/ml (Plain Sérum)

535 pg/ml (Héparine)

413 pg/ml (EDTA)

549 pg/ml (SST)

Comparaison de méthodes 1 : Le test a été comparé au dosage IMMULITE Calcitonine de DPC sur 150 échantillons. (intervalle de concentrations : environ jusqu'à 1 500 pg/ml. Voir graphique.) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 1,08 (IML) – 9,6 pg/ml
r = 0,991

Moyennes :

265 pg/ml (IMMULITE 2000)

253 pg/ml (IMMULITE)

Comparaison de méthodes 2 : Le test a été comparé également à un autre dosage disponible dans le commerce sur 67 échantillons (Kit A). (intervalle de concentrations : environ jusqu'à 1 500 pg/ml. Voir graphique.) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 0,81 (Kit A) – 0,4 pg/ml
r = 0,982

Moyennes :
193 pg/ml (IMMULITE 2000)
239 pg/ml (Kit A)

Assistance technique

Contactez votre distributeur national. En France distribué par DPC France 90 bd National 92257 La Garenne-Colombes.

Fabriqué par EURO/DPC Ltd. dans le cadre d'un Système Qualité enregistré sous ISO 13485:2003.

Italiano

IMMULITE 2000 Calcitonina

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con l'Analizzatore IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa della calcitonina (tirocalcitonina) nel siero umano o nel plasma eparinizzato, quale ausilio nella diagnosi e nella terapia di malattie che interessano le tiroide e le paratiroidi incluso il carcinoma e l'iperparatiroidismo.

Codice: **L2KCL2** (200 test)

Codice del Test: **CAL** Colore: **Rosa scuro**

Riassunto e spiegazione del Test

La calcitonina umana è un ormone peptidico a catena singola prodotto principalmente nella tiroide, dove viene secreta dalla cellule parafollicolari "C" piuttosto che dalle cellule che secernono la tiroxina.¹ La catena della calcitonina è formata da 32 aminoacidi in lunghezza ed ha una massa molecolare di 3 418 dalton.¹ In situazioni patologiche, l'ormone presenta un certo grado di eterogeneità. La sua emi-vita nel plasma è approssimativamente di 10 minuti. Metabolizzata prevalentemente nei reni, la calcitonina viene anche degradata da fattori plasmatici, rendendo pertanto importante il congelamento dei campioni subito dopo il prelievo.^{1,3}

Il significato fisiologico della calcitonina è incerto, ma ha un modesto effetto sull'abbassamento del calcio e del fosforo. La sua secrezione viene normalmente modulata innalzando ed abbassando i livelli di calcio con un aumento del calcio in circolo che provoca un aumento nel livello di calcitonina.^{1,18}

E' stato documentato un range basale a digiuno di 3–19 pg/mL in pazienti adulti, sulla base di radioimmunodosaggi basati su plasma estratto.² Livelli elevati (superiori a 100 pg/mL) si incontrano in molte patologie, soprattutto nel carcinoma medullare della tiroide, un tumore delle cellule che secernono la calcitonina della tiroide. Il peptide subisce frequentemente un innalzamento nei disturbi leucemici e mieloproliferativi.⁹

Inoltre, può essere prodotta ectopicamente dai tumori i.e.: quelli dei polmoni e del seno.^{10,11,12,15,19} La sua misurazione, tuttavia, non ha valore nella diagnosi di tali disturbi.

Elevazioni possono essere rilevate anche in concomitanza con iperparatiroidismo, ipergastrinemia, disordini renali ed infiammazioni croniche.^{13,18}

Procedura del Dosaggio

Il dosaggio IMMULITE 2000 Calcitonina è un dosaggio immunometrico in chemiluminescenza a due siti in fase solida.

Cicli d'incubazione: 2 x 30 minuti.

Prelievo dei Campioni

I valori di base sono ottenuti da campioni prelevati al mattino a digiuno. Se i campioni vengono prelevati quale partedi un test provocativo, occorre annotare il momento del prelievo in relazione all'infusione di calcio e di pentagastrina.

Non si consiglia l'utilizzo di plasma EDTA

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire campioni lipemici.

I campioni emolizzati possono indicare un trattamento non idoneo del campione prima dell'arrivo al laboratorio; per questo motivo, i risultati devono essere interpretati con prudenza.

La centrifugazione dei campioni di siero prima che la coagulazione sia completa può produrre fibrina. Per evitare risultati errati dovuti alla presenza di fibrina, assicurarsi che il processo di coagulazione sia completo prima di centrifugare i campioni. Alcuni campioni, in modo particolare quelli di pazienti sottoposti a terapia con anticoagulanti, possono richiedere tempi di coagulazione più lunghi.

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. L'IMMULITE 2000 Calcitonina non è stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume richiesto: 75 µL di siero o di plasma eparinizzato.

Conservazione: Stabile per 15 giorni a -20°C o per periodi più lunghi a -70°C.²³ Congelare immediatamente.

Avvertenze e precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

Reagenti: Conservare a 2-8°C. Eliminare secondo le normative di legge vigenti.

Seguire le precauzioni generali, e manipolare tutti i componenti come se potessero trasmettere agenti infettivi. Sono stati dosati i materiali di origine umana e sono stati trovati non reattivi per la Sifilide; per gli Anticorpi anti-HIV 1 e 2; per l'Antigene di Superficie dell'Epatite B; e per gli Anticorpi Anti-Epatite C.

Substrato chemiluminescente: Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce solare diretta. (Vedi metodica).

Acqua: Utilizzare solo acqua distillata o deionizzata.

Materiali forniti

I componenti costituiscono un unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

Contenitore di Sferette Calcitonina (L2CL12)

Con codice a barre. 200 biglie, coattate con un anticorpo monoclonale murino anti-calcitonina Stabile a 2-8°C fino alla data di scadenza.

L2KCL2: 1 Confezione.

Porta Reagente Calcitonina (L2CLA2)

Con codice a barre. 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugato con un anticorpo policlonale di capra anti-calcitonina, in un tampone proteico. Stabile a 2-8°C fino alla data di scadenza.

L2KCL2: 1 Porta Reagente.

Prima dell'utilizzo rimuovere la parte superiore dell'etichetta lungo la perforazione senza danneggiare il codice a barre. Togliere il foglio protettivo dalla parte superiore del flacone. Far scattare nella corretta posizione il coperchio scorrevole lungo le guide del coperchio del reagente.

Aggiustatori Calcitonina (LCLL, LCLH)

Due flaconi (Basso ed Alto) di calcitonina liofila, in una matrice/tampone proteica. Ricostituire ciascun flacone con **3,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Aliquotare e congelare. Stabili a -20°C per 3 mesi dopo la ricostituzione.

L2KCL2: 1 set.

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste (fornite col kit) sulle provette delle aliquote cosicchè i codici a barre possano essere registrati dal lettore.

Componenti del kit forniti separatamente

Multidiluyente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Per la diluizione interna di campioni prelevati da pazienti. Un flacone di tampone proteico non umano concentrato (pronto all'uso), con conservanti. Conservazione: 30 giorni (dopo l'apertura) a 2-8°C oppure 6 mesi (in aliquote) a -20°C

L2M2Z: 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

Vengono Fornite Le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 x 100 mm cosicchè i codici a barre possano essere letti dal lettore interno

L2M2Z: 3 etichette **L2M2Z4:** 5 etichette

L2SUBM: Substrato Chemiluminescente

L2PWSM: Tampone di lavaggio dell'Ago

L2KPM: Kit di Pulizia dell'Ago

LRXT: Tubi di Reazione (monouso)

L2ZT: 250 Provette (16 x 100 mm) per Diluente del Campione

L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluente del Campione

LCLCM: Modulo di controllo a due livelli basato su di un tampone proteico.

Materiali richiesti

Acqua distillata o deionizzata; Provette; controlli.

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per prestazioni ottimali, è importante effettuare le procedure di manutenzione di routine cosiccome definito nel Manuale dell'Operatore IMMULITE 2000.

Vedi Manuale dell'Operatore IMMULITE 2000 per: preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 4 settimane.

Campioni per il Controllo di Qualità:

Utilizzare controlli o pool di campioni con almeno due livelli (basso ed alto) di calcitonina.

Valori Attesi

Sono stati analizzati con il dosaggio IMMULITE 2000 Calcitonina campioni di siero di 120 uomini e 90 donne in buono stato di salute:

Uomini: Range superiore al 95%: 8,4 pg/mL (2,46 pmol/L)
Range assoluto: ND – 18,2 pg/mL (ND – 5,33 pmol/L)

Donne: Range superiore al 95%: 5,0 pg/mL (1,46 pmol/L)
Range assoluto: ND – 11,5 pg/mL (ND – 3,36 pmol/L)

Considerare questi limiti *soltanto come linee guida*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

Limiti

E' evidente dalla letteratura che forme multiple di calcitonina immunoreattiva siano presenti in circolo nei soggetti sani, nei pazienti con carcinoma midollare della tiroide e nei pazienti con altre neoplasie. Queste diverse forme di calcitonina (forme glicosilate e/o polimeri) possono avere pesi molecolari che variano da 3,4 a 70 KDa. Pertanto, alcuni campioni possono dare risposte diverse a seconda degli immunodosaggi e una mancata linearità nella diluizione.²⁴⁻²⁸

Possono essere riscontrati casi di soggetti che presentano livelli elevati di calcitonina immunoreattiva.²

Poiché la calcitonina è altamente labile, occorre fare molta attenzione a che i campioni siano prelevati e conservati in maniera idonea.^{1,3,7}

Laddove vengono prelevati diversi campioni dallo stesso paziente i.e. nel test di simulazione della pentagastrina o nel monitoraggio seriale, tutti i campioni devono essere dosati utilizzando la stessa procedura.

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi in vitro. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedi tabelle e grafici per dati *rappresentativi* delle prestazioni del dosaggio. I risultati sono espressi in pg/mL. (Se non diversamente previsto, tutti i risultati sono stati generati da campioni di siero raccolti in tubi senza barriere di gel o additivi che favoriscano la coagulazione.)

Fattore di Conversione:

pg/mL × 0,2926 → pmol/L

Range di Riferimento: 2 – 2 000 pg/mL (WHO 2nd IRP 89/620)

Effetto Gancio a Dosi Elevate: Nessuno fino a 25 000 pg/mL.

Sensibilità analitica:

2 pg/mL (0,6 pmol/L),

Precisione: I campioni sono stati elaborati in doppio in 20 giorni, due sedute al giorno, per un totale di 40 sedute ed 80 replicati. (Vedi tabella "Precision".)

Linearità: I campioni sono stati dosati a varie diluizioni. (Vedi tabella "Linearity" per dati rappresentativi.)

Recupero: Sono stati dosati campioni 1:19 cui sono state aggiunte tre soluzioni di calcitonina (600, 6 000 e 18 000 pg/mL) (Vedi tabella "Recovery" per dati rappresentativi).

Specificità: L'anticorpo è molto specifico per la Calcitonina. (Vedi tabella "Specificity".)

Bilirubina: La presenza di bilirubina coniugata e non coniugata in concentrazioni fino a 200 mg/L non ha nessun effetto entro il range di precisione del dosaggio.

Emolisi: La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 512 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Lipemia: La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 3 000 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Tipo di Campione Alternativo: per determinare l'effetto di Tipi di Campione Alternativi, è stato prelevato del sangue da 16 volontari in provette semplici, eparinizzate, vacutainer EDTA e Becton Dickinson SST®. Uguali volumi di campioni mescolati sono stati diluiti con varie concentrazioni di calcitonina, per ottenere valori lungo tutto il range di calibrazione del dosaggio e quindi dosati con il dosaggio IMMULITE 2000 Calcitonina.

(Eparina) = 0,99 (Siero) + 3,6 pg/mL
 $r = 0,999$

(EDTA) = 0,79 (Siero) - 16,1 pg/mL
 $r = 0,993$

(SST) = 1,02 (Siero intero) - 5,2 pg/mL
 $r = 0,999$

Valore medio:
542 pg/mL (Siero intero)
535 pg/mL (Eparina)
413 pg/mL (EDTA)
549 pg/mL (SST)

Comparazione di Metodi 1: Il dosaggio è stato comparato al dosaggio DPC IMMULITE Calcitonina su 150 campioni. (Range di concentrazione: circa fino a 1 500 pg/mL. Vedi grafico.) Mediante regressione lineare:

(IML 2000) = 1,08 (IML) - 9,6 pg/mL
 $r = 0,991$

Valore medio:
265 pg/mL (IMMULITE 2000)
253 pg/mL (IMMULITE)

Comparazione di Metodi 2: Il dosaggio è stato comparato ad un dosaggio disponibile in commercio (Kit A) su 67 campioni. (Range di concentrazione: Circa fino a 1 500 pg/mL. Vedi grafico.) Mediante regressione lineare:

(IML 2000) = 0,81 (Kit A) - 0,4 pg/mL
 $r = 0,982$

Valore medio:
193 pg/mL (IMMULITE 2000)
239 pg/mL (Kit A)

Assistenza Tecnica

All'Estero: Contattare il proprio distributore nazionale.

Prodotto dalla EURO/DPC Ltd. nell'ambito di un Sistema di Qualità Certificato ISO 13485:2003.

Português

IMMULITE 2000 Calcitonin

Utilização: Para uso em diagnóstico *in vitro* com o Analisador IMMULITE 2000 — para o doseamento quantitativo da calcitonina (tirocalcitonina) em soro humano ou plasma heparinizado, como auxiliar no diagnóstico e tratamento de doenças envolvendo as glândulas tiroideia e paratiroideia, incluindo carcinoma e hiperparatiroidismo.

Números de catálogo:
L2KCL2 (200 testes)

Código do teste: **CAL** Cor: **Rosa escuro**

Sumário e explicação do teste

A Calcitonina Humana é uma hormona péptidica de cadeia simples produzida primariamente na glândula tiroideia, onde é excretada pelas células "C" parafoliculares preferencialmente que pelas células secretoras de tiroxina.¹ A cadeia da calcitonina é formada por 32 amino-ácidos, e tem um peso molecular de 3 418 daltons.¹ Em condições patológicas, a hormona exibe um certo grau de heterogeneidade. A sua vida média no plasma é aproximadamente 10 minutos. Metabolizada predominantemente pelo rim, a calcitonina é também degradada em alguma extensão por um factor plasmático, tornando importante congelar

as amostras rapidamente após a colheita.^{1,3}

O significado fisiológico da calcitonina é incerto, mas tem um efeito modesto no decréscimo do cálcio e fósforo. A sua secreção é normalmente modulada pelo aumento e queda dos níveis de cálcio, com um aumento do cálcio circulante surge um aumento dos níveis de calcitonina.^{1,18}

Tem sido reportado em adultos saudáveis uma gama em jejum de 3–19 pg/mL com base em valores plasmáticos doseados por radioimunoensaio.² São encontrados níveis elevados (maiores que 100 pg/mL) numa variedade de condições patológicas, acentuadamente no carcinoma medular da tiroide, um tumor das células da tiroide secretoras de calcitonina. O peptido está também frequentemente elevado em leucemias e doenças mieloproliferativas.⁹

Adicionalmente, pode ser produzido ectopicamente por tumores, por exemplo, do peito ou pulmão.^{10,11,12,15,19} O seu doseamento, contudo, não parece ter significado no diagnóstico destas doenças.

Valores elevados podem ser vistos em conexão com hiperparatiroidismo, hipergastrinemia, falha renal e doença inflamatória crónica.^{13,18}

Princípio do Procedimento

IMMULITE 2000 Calcitonin é um imunoensaio imunométrico de fase sólida, marcado enzimaticamente, por quimioluminescência do dois-local.

Ciclos de incubação: 2 x 30 minutos.

Colheita

Amostras matinais em jejum são usadas para estabelecer valores basais. Se as amostras tiverem sido colhidas como parte de um teste provocativo, o tempo de colheita deve ser anotado relativamente as infusões de cálcio ou pentagastrina.

O EDTA tem um efeito no ensaio e não é recomendado como anticoagulante para a colheita da amostra.

Recomenda-se o uso de uma ultra centrífuga para clarear amostras lipémicas.

Amostras hemolisadas podem indicar tratamento incorrecto de uma amostra antes do envio para o laboratório; portanto os resultados devem ser interpretados com cuidado.

A centrifugação de amostras de soro antes da formação completa do coágulo pode resultar na presença de fibrina. Para prevenir resultados errados devido à presença de fibrina, certifique-se que a formação do coágulo foi completa antes da centrifugação das amostras. Algumas amostras, em especial as de doentes que recebem terapia anticoagulante podem requerer um maior tempo de formação do coágulo.

Os tubos para colheita sanguínea de diferentes fabricantes, podem originar diferentes valores, dependendo dos materiais e aditivos, incluindo gel ou barreiras físicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 Calcitonin não foram ainda testados com todas as possíveis variações originadas pelos tipos de tubos. Consultar a secção Tipos de Amostras Alternativas para obter detalhes sobre os tubos que foram testados.

Volume de Amostra: 75 µL de soro ou plasma heparinizado.

Armazenagem: Estável 15 dias a –20°C ou mais tempo a –70°C.²³ Congelar imediatamente.

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as leis aplicáveis.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas, obtidas de soro humano, foram testadas, revelando resultados negativos para a sífilis, para os anticorpos do vírus da imunodeficiência humana (HIV) 1 e 2; para o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e para os anticorpos do vírus da hepatite C.

Substrato quimioluminescente: Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula do substrato).

Água: Use água destilada ou deionizada.

Materiais Fornecidos

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. Os códigos de barras no interior das caixas são necessárias para o ensaio.

Embalagem de pérolas de Calcitonina (L2CL12)

Com código de barras. 200 pérolas, revestidas com anticorpo monoclonal de murino anti-calcitonina. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KCL2: 1 embalagem.

Embalagem de Reagentes de Calcitonina (L2CLA2)

Com código de barras. 11,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugada com anticorpo policlonal de cabra anti-calcitonina, num tampão proteico. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KCL2: 1 embalagem.

Antes de utilizar, retire a etiqueta de protecção da tampa deslizante; levante a tampa, remova o remanescente da etiqueta com o cuidado de não danificar o código de barras. Remova o selo de alumínio do topo da embalagem, encaixe a tampa deslizante nas ranhuras e verifique se a tampa desliza.

Ajustes de Calcitonina (LCLL, LCLH)

Dois frascos (Baixo e Alto) de calcitonina liofilizada, numa matriz proteica tamponada. Reconstituir cada frasco com **3,0 mL** de água destilada ou desionizada. Aliquotar e congelar. Estável a –20°C durante 3 meses após reconstituição.

L2KCL2: 1 conjunto.

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas da alíquota apropriadas (fornecidas com o "kit") nos tubos de amostra de forma a que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Multidiluinte 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Para diluição no instrumento de amostras de pacientes. Um frasco, de concentrado (pronto a usar) constituído por uma matriz baseada em proteína não humana, com conservante. Estabilidade: 30 dias (após

abertura) a 2–8°C ou 6 meses (em alíquotas) a –20°C

L2M2Z: 25 ml **L2M2Z4:** 55 ml

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluinte.

Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 x 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.

L2M2Z: 3 etiquetas **L2M2Z4:** 5 etiquetas

L2SUBM: Substrato quiomoluminescente

L2PWSM: Solução de lavagem

L2KPM: Kit de limpeza do pipetador

LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)

L2ZT: 250 Tubos de diluinte da amostra (16 x 100 mm)

L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluinte da amostra

LCLCM: Módulo de controlo de dois níveis de base proteica, tamponado.

Também necessário

Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos.

Procedimento de doseamento

Ter em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador do IMMULITE 2000.

Consulte o Manual do Operador de IMMULITE 2000 para instruções sobre preparação, diluição, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável:

4 semanas.

Amostras de Controlo de Qualidade:

Use controlos ou misturas de amostras com pelo menos dois níveis (baixo e alto).

Valores de Referência

Amostras de soro de 120 indivíduos do sexo masculino e 90 do sexo feminino aparentemente saudáveis foram ensaiadas pelo método Calcitonina IMMULITE 2000.

Homens: acima da faixa 95%: 8,4 pg/mL (2,46 pmol/L)

Gama absoluta: ND – 18,2 pg/mL (ND – 5,33 pmol/L)

Mulheres: acima da faixa 95%: 5,0 pg/mL (1,46 pmol/L)

Gama absoluta: ND – 11,5 pg/mL (ND – 3,36 pmol/L)

Considere estes limites *apenas como diretrizes*. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores de referência.

Limitações

Múltiplas formas de calcitonina imunoreativas estão presentes na circulação de indivíduos saudáveis, pacientes com carcinoma medular tireoidiano, e pacientes com outras malignidades. Estas diferentes formas de calcitonina (polímeros e/ou formas glicosiladas) podem ter peso molecular variando de 3,4 à 70 KDa. Por esse motivo, amostras podem exibir uma resposta variada em um imunensaio e uma diluição não linear.²⁴⁻²⁸

Alguns indivíduos saudáveis podem ter níveis de calcitonina imunoreactivos elevados.²

Porque a calcitonina é altamente lábil, deve ter-se especial atenção a um correcto procedimento de colheita e conservação.^{1,3,7}

Quando várias amostras são colhidas de um único doente, isto é, nos testes de estimulação com pentagastrina ou monitorização seriada, todas as amostras devem ser ensaiadas pelo mesmo procedimento.

Os anticorpos heterófilos no soro humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes no ensaio, causando interferência com os imunoenaios in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Amostras de doentes expostas em rotina a produtos ou soros de animais podem demonstrar este tipo de interferência, potencial causador de resultados anómalos. Estes reagentes foram formulados para minimizar o risco de interferência, contudo podem ocorrer potenciais interações entre soros (raros) e componentes do teste. Para fins de diagnóstico, os resultados obtidos neste ensaio devem ser sempre analisados em combinação com o exame clínico, história

de medicação do doente e outros achados que possam correlacionar.

Características do Ensaio

Consulte Tabelas e Gráficos para dados *representativos* do desempenho do doseamento. Os resultados são apresentados em pg/mL. (Salvo referência em contrário, todos os dados provêm de amostras de soro colhidas em tubos sem anticoagulantes, barreiras de gel ou aditivos promotores da coagulação.)

Factor de conversão:

pg/mL × 0,2926 → pmol/L

Zona de Trabalho: 2 – 2 000 pg/mL (WHO 2nd IRP 89/620)

Efeito Hook de Alta Dose: nenhum até 25 000 pg/mL.

Sensibilidade Analítica: 2 pg/mL (0,6 pmol/L),

Precisão: Amostras foram processadas em duplicado num período de 20 dias, dois ensaios por dia, perfazendo um total de 40 ensaios e 80 réplicas. (Ver tabela de "Precision".)

Linearidade: As amostras foram doseadas sob várias diluições. (Consulte a tabela "Linearidade" para dados representativos.)

Recuperação: Foram ensaiadas amostras adicionadas 1 para 19 com três soluções de calcitonina (600, 6 000 e 18 000 pg/mL). (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

Especificidade: O doseamento é específico para calcitonina. (Ver tabela de "Specificity".)

Bilirrubina: A presença de bilirubina conjugada e não conjugada em concentrações até 200 mg/L não tem efeito no procedimento dentro da precisão do ensaio.

Hemólise: A presença de hemoglobina em concentrações até 512 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipémia: A presença de triglicéridos em concentrações até 3 000 mg/dL não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Tipo de amostra alternativa: Para avaliar o efeito de tipos de amostras

alternativas, foram colhidas amostras de sangue de 16 voluntários em tubos secos, com EDTA, heparinizados e de vácuo Becton Dickinson SST®. Algumas das amostras foram adicionadas com várias concentrações de calcitonina para se obterem resultados ao longo da gama de calibração do ensaio, e ensaiadas com o procedimento IMMULITE 2000 Calcitonina.

(Heparina) = 0,99 (Soro) + 3,6 pg/mL
r = 0,999

(EDTA) = 0,79 (Soro) – 16,1 pg/mL
r = 0,993

(SST) = 1,02 (Soro de tubo seco) – 5,2 pg/mL
r = 0,999

Médias:

542 pg/mL (Soro de tubo seco)

535 pg/mL (Heparina)

413 pg/mL (EDTA)

549 pg/mL (SST)

Comparação de Métodos 1: O ensaio foi comparado com o IMMULITE Calcitonina da DPC em 150 amostras. (Zona de trabalho: aproximadamente: aproximadamente até 1 500 pg/mL. Consulte o gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 1,08 (IML) – 9,6 pg/mL
r = 0,991

Médias:

265 pg/mL (IMMULITE 2000)

253 pg/mL (IMMULITE)

Method Comparison 2: O ensaio foi comparado com um dispositivo disponível comercialmente (Kit A) em 67 amostras. (Zona de trabalho: aproximadamente: aproximadamente até 1 500 pg/mL. Consulte o gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 0,81 (Kit A) – 0,4 pg/mL
r = 0,982

Médias:

193 pg/mL (IMMULITE 2000)

239 pg/mL (Kit A)

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

Fabricado pela EURO/DPC Ltd. de acordo com o Sistema de Qualidade registado segundo a norma ISO 13485:2003.

EURO/DPC LTD

Glyn Rhonwy
Llanberis, Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

DPC®

Diagnostic Products Corporation
Corporate Offices
5210 Pacific Concourse Drive
Los Angeles, CA 90045-6900
USA

2006-08-07

PIL2KCL – 11



EC REP DPC Biermann GmbH
61231 Bad Nauheim
Germany
+49 -6032-994-00